PLANTA

ARCHIV
FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN, **G. TISCHLER**-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND **OTTO RENNER**

44. BAND, 2. HEFT

MIT 33 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 20. SEPTEMBER 1954)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1954

Planta (Berl.)

Preis DM 19.60

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik.

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler.* Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä., von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim,* oder an *Professor Dr. Otto Renner,* (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzinger Straße 67.*

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1

44. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 2. Heft

Seite

Linser, H., H. Mayr und F. Maschek, Papierchromatographie von zellstreckend wirksamen Indolkörpern aus *Brassica*-Arten. Mit 2 Textabbildungen 103

Meinl, G., und H. v. Guttenberg, Über Förderung und Hemmung der Entwicklung von Axillarsprossen durch Wirkstoffe 121

Pohl, R., Zur Frage einer wuchsstoffinduzierten, nichtosmotischen Wasseraufnahme bei der Zellstreckung. Mit 3 Textabbildungen 136

Lambertz, P., Untersuchungen über das Vorkommen von Plasmodesmen in den Epidermisaußenwänden. Mit 28 Textabbildungen 147

Pohl, R., Die Ursache der Aktivitätsunterschiede von Wuchsstoffen im Went- und im Zylindertest 191

Planta, Bd. 44, S. 103—120 (1954).

Aus dem Biologischen Laboratorium der Österreichische Stickstoffwerke A.G. Linz a. d. Donau.

PAPIERCHROMATOGRAPHIE VON ZELLSTRECKEND WIRKSAMEN INDOLKÖRPERN AUS *BRASSICA*-ARTEN.

Von

H. Linser, H. Mayr und F. Maschek.

Mit 2 Textabbildungen.

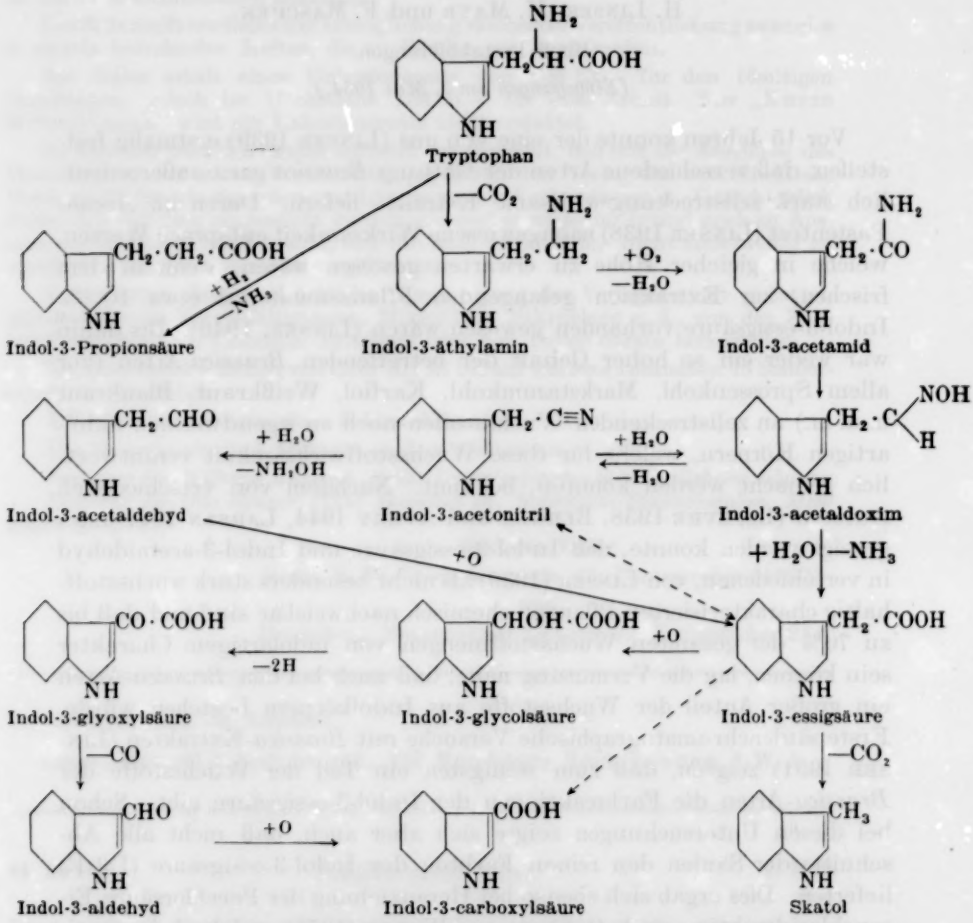
(Eingegangen am 3. Mai 1954.)

Vor 15 Jahren konnte der eine von uns (Linser 1939) erstmalig feststellen, daß verschiedene Arten der Gattung *Brassica* ganz außerordentlich stark zellstreckungswirksame Extrakte liefern. Deren im *Avena*-Pastentest (Linser 1938) nachgewiesene Wirksamkeit entsprach Werten, welche in gleicher Höhe zu erwarten gewesen wären, wenn in dem frischen, zur Extraktion gelangenden Pflanzenmaterial etwa 10^{-2}% Indol-3-essigsäure vorhanden gewesen wären (Linser, 1940). Bis dahin war weder ein so hoher Gehalt der betreffenden *Brassica*-Arten (vor allem Sprossenkohl, Markstammkohl, Karfiol, Weißkraut, Blaukraut u. a. m.) an zellstreckenden Wuchsstoffen noch an irgendwelchen indolartigen Körpern, welche für diese Wuchsstoffwirksamkeit verantwortlich gemacht werden könnten, bekannt. Nachdem von verschiedenen Autoren (Lefèvre 1938, Berger und Avery 1944, Larsen 1944 u. a.) gezeigt werden konnte, daß Indol-3-essigsäure und Indol-3-acetaldehyd in verschiedenen, von Linser (1939) als nicht besonders stark wuchsstoffhaltig charakterisierten Pflanzen chemisch nachweisbar sind und daß bis zu 70% der gesamten Wuchsstoffmengen von indolartigem Charakter sein können, lag die Vermutung nahe, daß auch bei den *Brassica*-Arten ein großer Anteil der Wuchsstoffe aus Indolkörpern bestehen würde. Erste säulenchromatographische Versuche mit *Brassica*-Extrakten (Linser 1951) zeigten, daß zum wenigsten ein Teil der Wuchsstoffe der *Brassica*-Arten die Farbreaktionen der Indol-3-essigsäure gibt. Schon bei diesen Untersuchungen zeigte sich aber auch, daß nicht alle Abschnitte der Säulen den reinen Farbton der Indol-3-essigsäure (I-3-E) lieferten. Dies ergab sich ebenso bei Heranziehung der Perchlorsäure-Eisenchloridreaktion nach Gordon und Weber (1951), welche bei quantitativ arbeitender Ausführung ebenfalls an Chromatogrammen von *Brassica*-Arten zeigte (Linser und Maschek 1953), daß die colorimetrisch ermittelten Indol-3-essigsäure-Äquivalente stets kleinere Werte besaßen als die im Pastentest auf Grund der physiologischen Wirkung ermittelten Werte für Indol-3-essigsäure-Äquivalente. Dies besagte, daß entweder

neben I-3-E nichtindolartiger Wuchsstoff vorlag oder aber, daß ein Teil der indolartigen Wuchsstoffe nicht I-3-E war, sondern Stoffe, welche mit Perchlorsäure-$FeCl_3$ weniger stark gefärbte Reaktionsprodukte lieferten als die I-3-E. Inzwischen war der Nachweis von I-3-E neben Indol-3-

Übersicht 1.

Schema der im Tryptophanabbau möglichen, der Indol-3-essigsäure nahestehenden Indolderivate.



aldehyd und Indol-3-acetonitril (IAN) in *Brassica*-Pflanzen gelungen, wobei Denffer, Behrens und Fischer (1952) auch die papierchromatographische Methode heranzogen. Da neben den genannten Stoffen aber noch eine größere Zahl andersartiger Indolderivate mit oder ohne Wuchsstoffeigenschaften aus dem Tryptophanstoffwechesl entstehen können (vgl. Schema der Übersicht 1) erschien es notwendig, die Extrakte ver-

schiedener *Brassica*-Pflanzen möglichst genau auf verschiedenartige, nebeneinander vorliegende Indol-Derivate zu untersuchen.

Die in Übersicht 1 gezeigten Verbindungen sind im Zuge des Tryptophan-Abbaues zu erwarten und aus Tryptophan zum größten Teil ohne Energiezufuhr bzw. durch ganz geringen Reduktionsaufwand zu gewinnen. Dies zeigt Übersicht 2, in der der Reduktionszustand des Kohlenstoffs für die einzelnen Verbindungen angegeben ist.

Übersicht 2.

Verbindung	Brutto-Formel	Reduktionszustand des Kohlenstoffs[1] in der Verbindung
Tryptophan	$C_{11}H_{12}O_2N_2$	59
Indol-3-äthylamin . .	$C_{10}H_{12}N_2$	65
Skatol	C_9H_9N	62
Indol-3-acetamid . . .	$C_{10}H_{10}ON_2$	60
Indol-3-acetaldoxim .	$C_{10}H_{10}ON_2$	60
Indol-3-acetonitril . .	$C_{10}H_8N_2$	60
Indol-3-acetaldehyd .	$C_{10}H_9ON$	59
Indol-3-propionsäure .	$C_{11}H_{11}O_2N$	58
Indol-3-aldehyd . . .	C_9H_7ON	57
Indol-3-essigsäure . .	$C_{10}H_9O_2N$	56
Indol-3-carboxylsäure .	$C_9H_7O_2N$	54
Indol-3-glykolsäure .	$C_{10}H_9O_3N$	54
Indol-3-glyoxylsäure .	$C_{10}H_7O_3N$	51

[1] Die totale Reduktion des Kohlenstoffs (CH_4) ist gleich 100 gesetzt (daher $CO_2 = 0{,}0$). Die Errechnung des Reduktionszustandes erfolgte aus der zur vollständigen Verbrennung der Verbindung erforderlichen Anzahl von Sauerstoffatomen (pro Molekül) bezogen auf den C-Gehalt pro Molekül.

Inzwischen konnte A. Fischer (1954), der sich gleichzeitig mit unseren Arbeiten ausführlich mit dem Nachweis von indolartigen Wuchsstoffen in *Brassica*- und anderen Arten befaßte, neben der Indol-3-essigsäure papierchromatographisch und -elektrophoretisch eine Farbzone „B" nachweisen, deren chemische Identität nicht geklärt werden konnte, während er in den Filtraten aus Al_2O_3-Säulen neben dem Indol-3-acetonitril zwei weitere, nicht identifizierte Indolkörper fand. Er konnte auch zeigen, daß bei Bestrahlung von Indol-3-essigsäure mit UV-Licht in Gegenwart von Riboflavin Indol-3-glykolsäure und Indol-3-aldehyd entstehen, was wohl vermuten läßt, daß diese Stoffe auch in Pflanzen bzw. in pflanzlichen Extrakten aufzufinden sein mögen.

Methode.

Die Herstellung der Extrakte erfolgte zunächst in der von dem einen von uns früher beschriebenen Weise mit kochendem Äthylalkohol (Linser 1939). Um eventuellen Veränderungen in der Zusammensetzung des Extraktes durch die Hitzeeinwirkung zu begegnen, wurden bei den weiteren Versuchen jedoch alkoholische Kaltextrakte (bei $+1°C$) hergestellt (Versuche Tabellen 1—4), doch brachten diese keine quantitative Extraktion. Bei der papierchromatographischen Untersuchung sowohl der Heiß- wie auch der Kaltextrakte stellte sich schnell heraus,

daß die großen, im Extrakt vorhandenen Chlorophyllmengen eine Auswertung der Chromatogramme unmöglich machten. Nach zahlreichen Versuchen, das Chlorophyll ohne Verluste an Indolkörpern abzutrennen, erwies sich die folgende Methode zur Gewinnung chlorophyllfrei chromatographierbarer Extrakte als die bisher beste:

Das Pflanzenmaterial wird durch oberflächliches Abwaschen gereinigt, in etwa 1 cm breite Streifen geschnitten und sofort in das Lösungsmittel gebracht, welches folgende Zusammensetzung hat:

1 Teil 96%iger Alkohol,
1 Teil destilliertes Wasser.
0,1% $Al_2(SO_4)_3$ (bezogen auf die gesamte Flüssigkeitsmenge).

Es wird die 5—7fache Menge Lösungsmittel verwendet. Nach 1—2stündigem Stehen wird das Pflanzenmaterial unter Lösungsmittel in einer Reibschale möglichst weitgehend zerquetscht und dann 12 Std am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Abkühlen wird der Extrakt zentrifugiert und bei 70° C auf dem Wasserbad so weit eingeengt, bis kein Alkohol mehr darin vorhanden ist. (Eher wird noch etwas mehr abgedampft.) Der wäßrige Rückstand wird mit etwa der 5fachen Menge reinem, peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt und der so hergestellte Ätherauszug bei 40° C abgedampft und im Eisschrank aufbewahrt. Nach dieser Methode wurde der Tabelle 5 betreffende Versuch aufgearbeitet.

Zur Gewinnung der Papierchromatogramme wurde die im folgenden beschriebene Methode verwendet. Zur Anwendung gelangte wegen der Möglichkeit, auch Substanzen mit kleinen Rf-Wert-Unterschieden noch gut trennen zu können, die absteigende Methode (Cramer 1953). Der wie oben beschriebene Ätherauszug aus dem Pflanzenmaterial wurde am Wasserbad eingedampft bis zu einem klaren, hochviscosen Rückstand. Kurz vor der Herstellung des Papierchromatogramms wurde dieser Rückstand in 2 cm^3 Äther aufgenommen. Diese ätherische Substanzlösung, welche nicht mehr als 60 γ Substanz enthalten durfte und den Vorteil hat, auf dem Papier rasch zu verdampfen und kleine Flecken zu bilden, wurde an der vorher angezeichneten Startlinie des Chromatogramms mit Hilfe einer Pipette, wie sie zur Blutentnahme zur Blutkörperchenzählung verwendet wird, durch Auftropfen in Form eines Fleckes von maximal 1,5 cm Durchmesser aufgebracht. Bei verdünnteren Lösungen mußten die Tropfen in zeitlichen Abständen, jeweils nach Abtrocknen der sich bildenden Flecken aufgetragen werden, um eine unliebsame Vergrößerung des Durchmessers zu vermeiden. Die Aufbringung eines Streifens geschah in der Weise, daß die Tropfen nebeneinander aufgetragen wurden und eine Vereinigung durch Zusammenfluß auftrat. Die zum Auftragen verwendete Pipette war mit Hg geeicht. Ihr Volumen betrug 25,8 mm^3, wobei die Hälfte davon (12,9 mm^3) bei unseren Versuchen als *eine Einheit* (1 E) bezeichnet wurde. Die Start-

punkte hatten untereinander einen Abstand von 3,5—5 cm. Als Papier hat sich für unsere Untersuchungen das bekannte Standardpapier Whatman Nr. 1 bestens bewährt. Seine Laufzeit gestattet es, die Chromatogramme über Nacht laufen zu lassen und jeweils am Morgen mit der Auswertung beginnen zu können. Das Papier Whatman Nr. 4 wurde nur zu Vorversuchen oder zu solchen Versuchen, bei welchen eine kürzere Laufzeit vorteilhaft war, herangezogen. Die Papiere wurden nach Abtrocknen der Startflecke in den Kasten eingehängt, in welchem bereits eine gesättigte Atmosphäre über dem verwendeten Lösungsmittel i-Propanol : H_2O : NH_2 (d = 0,91) = 80:15:5 (Vlitos und Meudt 1953) vorhanden war. Der Kasten mußte so aufgestellt werden, daß er allseits derselben Temperatur ausgesetzt war und nicht etwa im Inneren ein Temperaturgefälle und damit Konvektion eintrat, weil sonst keine Geradlinigkeit der Lösungsmittelfront erzielt werden konnte. Mit dem Eingießen des Lösungsmittels in den Glastrog begann die eigentliche Chromatographie, welche nach entsprechender Länge des Chromatogramms (etwa 30 cm) durch Herausnehmen des Papiers abgebrochen wurde. Nach dem Trocknen erfolgte die Entwicklung (s. unten) sowie eine Betrachtung eines eigens zu diesem Zweck angesetzten Chromatogramms im UV-Licht und die Auswertung nach den R_f-Werten. Eine quantitative Auswertung konnte auf mehrere Arten erfolgen:

1. Nach der Fleckengröße (wobei die Fleckengröße proportional dem Logarithmus des Gehaltes an Substanz ist) mit Eichung.

2. Durch Elution der aufgetrennten Substanzen und colorimetrische Bestimmung im Stufenphotometer bzw. durch biologische Prüfung im Pastentest (oder beides). Dabei hat sich zur Elution die in Abb. 1 gezeigte Anordnung gut bewährt. Im dampfgesättigten Raum werden die einzelnen Chromatogrammabschnitte nebeneinander an einem bereits feuchten Filtrierpapierstreifen, welcher aus einem Glastrog Lösungsmittel ansaugt, angeklebt („angeklatscht") und durch mehrere Stunden in daruntergestellte Glasschälchen eluiert. Um die verschiedenen Auswertungen durchführen zu können, mußten jeweils bis zu 6 Parallelbestimmungen angesetzt werden und das Chromatogramm aufgeteilt werden, wie dies aus Abb. 2 ersichtlich ist.

Wegen der bekannten Lichtempfindlichkeit der I-3-E wurden alle Arbeiten zu den später geschilderten Versuchen unter Ausschaltung von Tageslicht, bei schwacher künstlicher Beleuchtung bzw. bei vollkommener Dunkelheit durchgeführt. Von der Reihe von Farbreaktionen, mit welchen Indolverbindungen, insbesondere I-3-E, nachgewiesen werden können, wurden im besonderen nachgeprüft die Besprühung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in HCl, welche mit I-3-E blaue Flecken gibt (Vlitos und Meudt 1953), die Besprühung mit 1% alkoholischer $NaNO_2$-Lösung und Exponierung in HCl-Atmosphäre (violette Flecke)

und die Reaktion mit 35% $HClO_4$ (50 cm³) und 0,5 molarer $FeCl_3$-Lösung (1 cm³) Gordon und Weber, 1951). Es zeigte sich, daß unseren Anforderungen hinsichtlich Empfindlichkeit und Haltbarkeit der Färbung die Entwicklung durch Besprühung mit $HClO_4$-$FeCl_3$ (versprüht mit N_2-Gas) am besten entsprach. Auch zur quantitativen Bestimmung der I-3-E in den Eluaten wurde diese Methode herangezogen. Es konnte mit ihr an Papierchromatogrammen noch eine Menge von 0,5 γ I-3-E

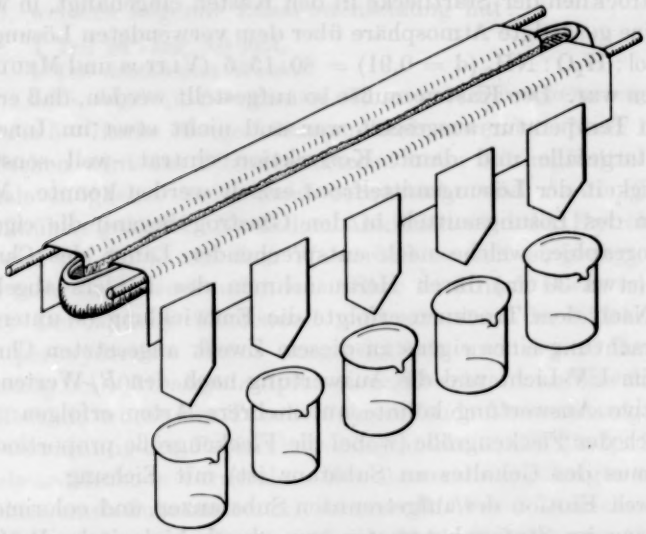


Abb. 1. Anordnung zur Elution von Abschnitten aus Papierchromatogrammen (vgl. Abb 2). Die einzelnen, seitlich zu einer Spitze zugeschnittenen Abschnitte des eindimensionalen Chromatogramms werden mit dieser nach abwärts an einen in die Lösungsmittelwanne tauchenden Papierstreifen angelegt, indem sie am oberen Ende kurz mit dem Elutionsmittel befeuchtet und dann sogleich mit einer Pinzette an den Rand des eingetauchten Papieres angelegt werden. Sie bleiben dort gut haften und übernehmen gleichzeitig Elutionsmittel aus der Wanne, das dann in die untergestellten Gefäße abtropft.

nachgewiesen werden, während die besten Ergebnisse im Bereich von etwa 2—10 γ I-3-E erzielt wurden.

Als besonderen Vorteil besitzt die Perchlorsäure-Eisenchloridreaktion spezifische Farb- und Verhaltenscharakteristiken der verschiedenen Indolkörperspots bei der Entwicklung, welche wertvolle Anhaltspunkte für die Identifizierung einzelner Stoffe bieten und im Zweifelsfalle eine Erkennung oder Trennung zweier Stoffe mit nahe beieinanderliegenden R_f-Werten ermöglichen bzw. erleichtern können. Die hier beschriebenen Methoden gestatten somit eine papierchromatographische Trennung der verschiedenen Inhaltsstoffe der Pflanzen, soweit sie durch die Extraktion erfaßt wurden, und ihre Charakterisierung durch Fluorescenzfarbe und Farbreaktion auf Indolkörper nebst paralleler Bestimmung der Zellstreckungswirksamkeit im physiologischen Test. Eine colorimetrische Bestimmung konnte mangels Vergleichsprodukten nur für die Indol-

3-essigsäure durchgeführt werden; aus gleichen Gründen wurde die physiologische Wirkung in Indol-3-essigsäure-Äquivalenten berechnet. Nur beim Indol-3-acetonitril konnte eine für diese Substanz ermittelte Eichkurve mitbenutzt werden, so daß hierfür auch Indol-3-acetonitril-Äquivalente angegeben werden konnten.

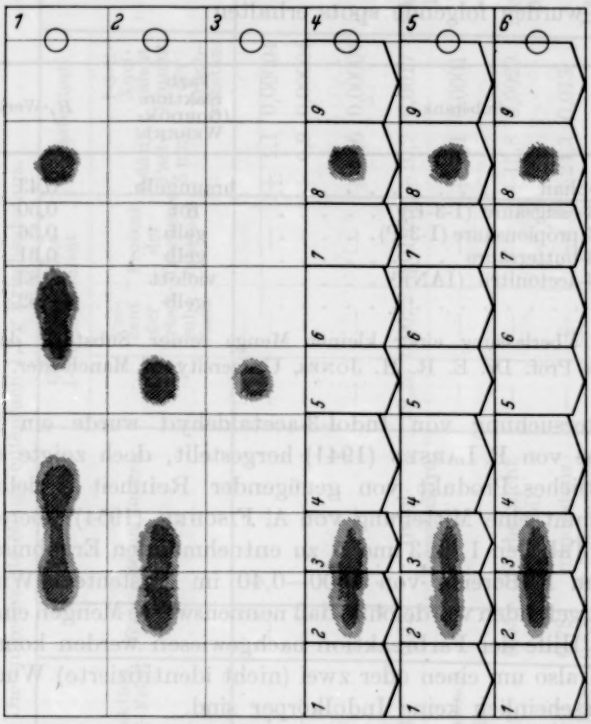


Abb. 2. Papierbogen mit 6 nebeneinander angebrachten, davon 5 untereinander gleichartigen Chromatogrammen (waagrecht 1—6). Chromatogramm Nr. 1 wird abgeschnitten und im UV-Licht auf Fluorescenzverteilung geprüft. Da durch die Einwirkung von UV Stoffe (beispielsweise Indol-3-essigsäure) zerstört werden können, wird das Chromatogramm anschließend verworfen. Chromatogramm Nr. 2 wird durch Besprühen mit dem Reagens entwickelt. Nr. 3, welches an Stelle des Extraktes mit den entsprechenden reinen Vergleichssubstanzen (Beispiel: Indol-3-essigsäure) angesetzt wurde, wird ebenfalls mit dem Reagens besprüht. Die Chromatogramme 4, 5 und 6 werden eluiert (vgl. Abb. 1). Die Aufteilung in Einzelabschnitte (1—9) erfolgt dabei unter Berücksichtigung der Lage der mit der Farbreaktion sowie nach Fluorescenzfarben unterscheidbaren „spots". Streifen 4 und 5 kann zur colorimetrischen Wirkstoff-, Streifen 6 zur biologischen Wirkungsbestimmung verwendet werden. (Bei den Chromatogrammen 4—6 deuten die eingezeichneten spots deren natürliche Eigenfärbung ohne Vornahme einer Farbreaktion an.)

Ergebnisse.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1—5 übersichtlich zusammengestellt. Sie zeigen, daß bei allen untersuchten Pflanzenmaterialien neben Indol-3-essigsäure auch Indol-3-acetonitril nachweisbar war. Die betreffenden R_f-Werte für sich allein bieten keine genügende Sicherheit der Identität, da sie in ihrer Lage durch die übrigen Extraktstoffe merklich verschoben werden können. Die relative Lage der spots zu jenen

der fluorescierenden Inhaltsstoffe und ihre charakteristische Färbung mit dem Perchlorsäure-Eisenchlorid-Reagens (Gordon-Weber) sowie die Winkel- und Konzentrations-Wirkungs-Charakteristik im Pastentest geben zusammen sich gegenseitig sichernde Kriterien für die Identitätsbestimmung der nachzuweisenden Stoffe ab. In Versuchen mit reinen Substanzen wurden folgende spots erhalten:

Substanz	Farbreaktion (Gordon-Weber)	R_f-Wert
Tryptophan	braungelb	0,43
Indol-3-essigsäure (I-3-E)	rot	0,50
Indol-3-propionsäure (I-3-P)	gelb	0,56
Indol-3-buttersäure	gelb	0,61
Indol-3-acetonitril (IAN)[1]	violett	0,83
Skatol	gelb	0,82

[1] Für die Überlassung einer kleinen Menge reiner Substanz danken wir hiermit Herrn Prof. Dr. E. R. H. Jones, University of Manchester.

Zur Untersuchung von Indol-3-acetaldehyd wurde ein Präparat nach Angabe von P. Larsen (1941) hergestellt, doch zeigte sich, daß kein einheitliches Produkt von genügender Reinheit erzielbar war. Hiermit stimmt eine Mitteilung von A. Fischer (1954) überein.

Die den Tabellen 1, 2, 3 und 5 zu entnehmenden Ergebnisse zeigen nun, daß im R_f-Bereich von 0,00—0,40 im Pastentest Wuchsstoffwirksamkeit gefunden wurde,ohne daß nennenswerte Mengen eines Indolkörpers mit Hilfe der Farbreaktion nachgewiesen werden konnten. Es handelt sich also um einen oder zwei (nicht identifizierte) Wuchsstoffe, welche wahrscheinlich keine Indolkörper sind.

Ebenso läßt das Ergebnis für Kohl (Tabelle 2) vermuten, daß im R_f-Bereich 0,89—1,00 ein ziemlich stark wirksamer, nicht indolartiger Wuchsstoff vorliegt. Nicht identifizierte Wuchsstoffe, die wahrscheinlich Indolcharakter besitzen (weil sich in den gleichen R_f-Bereichen starke Indolreaktion zeigte) wurden in grünen Blättern von Kohlsprossen (im R_f-Bereich von 0,46—0,59 mit ockergelber Farbreaktion) sowie bei einer jungen Kohlpflanze (im R_f-Bereich 0,66—0,77 mit roter Farbreaktion) und bei Weißkraut (im R_f-Bereich 0,64—0,70 mit nichtstabiler orangeroter Farbreaktion) gefunden. Bei letzgenannter Pflanze zeigte sich auch im R_f-Bereich 0,58—0,64 bei sehr schwacher roter Farbreaktion eine schwache Zellstreckungswirksamkeit, welche auf das Vorliegen eines nicht identifizierten Wuchsstoffes (in kleiner Menge) hinweist.

Im folgenden soll noch ein Überblick über die bis jetzt von uns in der von uns am genauesten untersuchten *Brassica*-Art (Sprossenkohl) in der Farbreaktion nach Gordon und Weber im Papierchromatogramm ge-

Tabelle 1. *Weißkraut (Brassica oleracea var. capitata f. alba).*

Junge, 750 g schwere Pflanze. 29,37 g Frischsubstanz (= 3,26 g Trockensubstanz) 24 Std lang mit Äthylalkohol bei + 1°C extrahiert, Extrakt bei 70° C zur Trockne verdampft und mit Äther extrahiert; diesen auf 2 cm³ eingeengt und davon 90,3 mm³ auf Papier Whatman Nr. 1 absteigend chromatographiert. Die aufgebrachte Menge entsprach 1,3 g Frischsubstanz.

Abschnitt	Länge mm	R_f-Bereich	Fluorescenzfarbe	Farbreaktion $HClO_4 + FeCl_3$	R_f	Bemerkungen	Colorimetrisches I-3-E-Äquivalent			Pastentest		Bemerkungen
							γ	Prozent der Frischsubstanz	Prozent der Trockensubstanz	2,65 nK Paste Z mm	I-3-E-Äquivalent Prozent der Frischsubstanz	
7	50	0,00—0,21	schwach blau	—	—	—	—	—	—	+ 1,1	0,00004	—
6	32	0,21—0,35	schwach grünlichblau	—	—	—	—	—	—	+ 0,9	0,00004	—
5	15	0,35—0,41	stark hellblau	—	—	—	—	—	—	+ 1,6	0,00004	—
4	40	0,41—0,58	schwach grün	rot	0,52	Indol-3-essigsäure	29,25	0,0022	0,01987	+10,7	0,0017	Übereinstimmung hinreichend
3	14	0,58—0,64	stark violett	sehr schwach rot	—	—	—	—	—	+ 3,1	0,0001	—
2	15	0,64—0,70	schwach grau	orange	0,65	Farbe nicht stabil	—	—	—	+15,8	0,0029	nicht identifizierter Wuchsstoff
1	64	0,70—0,97	Rand stark blau	violett rotviolett	0,78 0,85	mindestens 2 indolartige Stoffe ungetrennt	—	—	—	+24,3	0,013	Hauptmenge an wirksamer Substanz IAN
1—7	230	0,00—0,98	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0187	= 0,168% d. T.S.

Tabelle 2. *Kohl (Brassica oleracea var. sabauda).*

Junge, 520 g schwere Pflanze. 26,3 g Frischsubstanz (= 2,64 g Trockensubstanz) mit Äthylalkohol 24 Std bei + 1° C extrahiert, Extrakt bei 70° C zur Trockne verdampft und mit Äther aufgenommen; diesen auf 2 cm³ eingeengt und davon 25,8 mm³ für die colorimetrische und 25,8 mm³ für die biologische Bestimmung absteigend chromatographiert.

Abschnitt	Länge mm	R_f-Bereich	Fluorescenzfarbe	Farbreaktion $HClO_4 + FeCl_3$	R_f	Bemerkungen	Colorimetrisches I-3-E-Äquivalent			Pastentest		Bemerkungen
								Prozent der Frischsubstanz	Prozent der Trockensubstanz	2,65 nK Paste Z mm	I-3-E-Äquivalent Prozent der Frischsubstanz	
8	44	0,00—0,18	—	—	—	—	—	—	—	− 0,2	—	—
7	34	0,18—0,33	—	—	—	—	—	—	—	+ 2,0	0,00035	nicht indolartige oder nur schwache Reaktion gebende Wuchsstoffe
6	17	0,33—0,40	hellblau	—	—	—	—	—	—	+ 4,4	0,00120	
5	32	0,40—0,53	stark hellblau	rot	0,47	I-3-E	7,63	0,00224	0,0224	+ 5,0	0,00186	Übereinstimmung hinreichend
4	31	0,53—0,66	—	orange	0,66	Farbe nur kurze Zeit haltbar	—	—	—	− 1,0	—	Hemmstoff?
3	26	0,66—0,77	hellblau	rot	0,78	Zwischen Zone 2 und 3 liegt eine gelb-bräunlich gefärbte Zone, die die beiden spots scharf trennt		—	—	+ 9,4	0,01075	nicht identifizierter Wuchsstoff
2	29	0,77—0,89	violett	rot-violett	0,87			—	—	+16,0	0,02420	Hauptmenge wirksame Substanz Indol-3-acetonitril
1	26	0,89—1,00	—	—	—	—	—	—	—	+ 7,6	0,00379	nicht indolartiger Wuchsstoff?
1—8	239	0,00—1,00	—	—	—	—	—	—	—	—	0,04219	= 0,420% d. T.S.

Tabelle 3. *Sprossenkohl (Brassica oleracea var. gemmifera).*

Erwachsene Pflanze. 12,52 g Frischsubstanz (= 1,89 g Trockensubstanz) mit Äthylalkohol 24 Std bei + 1° C extrahiert, Extrakt bei 70° C zur Trockne verdampft und mit Äther aufgenommen; diesen auf 2 cm³ eingeengt und davon 51,6 mm³ für die colorimetrische und 25,8 mm³ für die biologische Bestimmung absteigend chromatographiert.

Abschnitt	Länge mm	R_f-Bereich	Fluorescenzfarbe	Farbreaktion $HClO_4$ + $FeCl_3$	R_f	Bemerkungen	Colorimetrisches I-3-E-Äquivalent: γ	Prozent der Frischsubstanz	Prozent der Trockensubstanz	Pastentest: 2,65 nK Paste Z mm	I-3-E-Äquivalent Prozent der Frischsubstanz	Bemerkungen
9	49	0,00—0,19	—	—	—	—	—	—	—	− 1,0	—	—
8	34	0,19—0,32	hellblau	—	—	—	—	—	—	+ 2,3	0,0005	nicht identifizierter Wuchsstoff
7	28	0,32—0,43	—	—	—	—	—	—	—	− 0,3	—	—
6	25	0,43—0,53	stark hellblau	rot	0,50	I-3-E	6,75	0,0021	0,0138	+ 8,1	0,0062	physiologisch etwas stärker wirksam als I-3-E
5	19	0,53—0,60	hellblau	—	—	—	—	—	—	− 0,4	—	—
4	30	0,60—0,72	violett	orange	0,64	Farbe nur 1 min lang sichtbar	—	—	—	− 1,2	—	Hemmstoff?
3	27	0,72—0,83	rot-braun	nicht beobachtbar wegen Eigenfarbe	—	—	—	—	—	+ 7,5	0,0049	nicht identifizierter Wuchsstoff
2	35	0,83—0,96	rot-braun		—	—	—	—	—	+17,8	0,037	Hauptmenge an wirksamer Substanz IAN
1	10	0,96—1,00	—	—	—	—	—	—	—	+ 2,8	0,0006	—
1—9	257	0,00—1,00	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0492	=0,326% d. T.S.

Tabelle 4. *Sprossenkohl (Brassica oleracea var. gemmifera).*

„Sprossen" einer erwachsenen Pflanze, innere gelbe Blätter. 100 g Frischsubstanz (= 18,8 g Trockensubstanz) mit Äthylakohol 24 Std bei 1° C extrahiert, Extrakt bei 70° C zur Trockne verdampft und mit Äther aufgenommen; diesen auf 2 cm³ eingeengt und davon 103 mm³ (5,2 g Frischsubstanz) für die biologische Bestimmung chromatographiert. Papier Whatman Nr. 1.

Abschnitt	Länge mm	R_f-Bereich	Fluorescenzfarbe	Farbreaktion $HClO_4$ + $FeCl_3$	R_f	Bemerkungen	Pastentest 2,6 nK Z %	Pastentest I-3-E-Äquivalent Prozent der Frischsubstanz	Bemerkungen
1	51	0—0,18	gelb, grün, blau	gelblich, bräunlich	—	—	+ 10,5	0,00012	nicht identifizierte Wuchsstoffe
2	65	0,18—0,41	—	violettrot	0,37	—	+ 26,2	0,00060	nicht identifizierte Wuchsstoffe
3	89	0,41—0,72	rotbraun, braun	violett, gelb	0,45	Indol-3-essigsäure	+ 40,3	0,00150	—
4	80	0,77—1,0	ocker (verlaufend)	braunviolett, braungelb	0,76	Indol-3-acetonitril	+ 90,6	0,01800	Indol-3-acetonitril-Äquivalente: etwa 0,0022% der Frischsubstanz[1]
1—4	285	—	—	—	—	—	—	0,0202	—

[1] Die Bestimmung erfolgte im Pastentest an Hand einer Eichkurve für Indol-3-acetonitril.

Tabelle 5. *Sprossenkohl (Brassica oleracea var. gemmifera).*

„Sprossen" einer erwachsenen Pflanze, äußere, grüne Blätter. 117 g Frischsubstanz (= 18,2 g Trockensubstanz) wurden nach der Aluminiumsulfatmethode (vgl. S. 106) extrahiert und verarbeitet. Eine 3 g Frischsubstanz entsprechende Menge in Äther gelösten Extraktrückstandes wurde chromatographiert. Papier Whatman Nr. 1.

Abschnitt	Länge mm	R_f-Bereich	Fluorescenzfarbe R_z	Farbreaktion $HClO_4 + FeCl_3$	R_f	Bemerkungen	Pastentest: 1,5 mK Z %	Pastentest: I-3-E-Äquivalent Prozent der Frischsubstanz	Bemerkungen
1	46	0,0 —0,13	gelb	—	—	—	+ 3,9	0,000045	—
2	65	0,13—0,31	grünblau (0,19) violettblau (0,25)	—	—	—	+ 12,3	0,00028	nicht identifizierter Wuchsstoff
3	54	0,31—0,46	—	rot rot	0,34 0,42	I-3-E	+ 9,9	0,00019	—
4	46	0,46—0,59	blau (0,52)	ocker	0,48	—	+ 0,2	0,00017	nicht identifizierter Wuchsstoff
5	59	0,59—0,76	blau (0,63)	orangegelb	0,72	—	0	—	unwirksamer Indolkörper
6	86	0,76—1,00	orange	blauvioletter Ring, innen gelborange	0,82 0,88	Indol-3-acetonitril	+ 66,0	0,01200	Indol-3-acetonitril-Äquivalente etwa 0,00042% der Frischsubstanz
1—6	356	—	—	—	—	—	—	0,0127	—

fundenen Indolverbindungen gegeben werden, ohne auf die quantitativen und physiologischen Verhältnisse näher einzugehen. Da die R_f-Werte der verschiedenen spots, wie bereits erwähnt, von Chromatogramm zu Chromatogramm je nach den Versuchsbedingungen kleinen Schwankungen unterworfen sind, scheint es zweckmäßiger, statt der R_f-Werte die $R_{\text{I-3-E}}$-Werte anzugeben, also den R_f-Wert der I-3-E-spots gleich 1,00 zu setzen. Es gilt also

$$R_{\text{I-3-E}} = \frac{R_{fx}}{R_{f\text{I-3-E}}}.$$

R_{f_x} = R_f-Wert der Substanz x,
$R_{f\text{I-3-E}}$ = R_f-Wert der I-3-E (Indol-3-Essigsäure).

Der Vorteil des Gebrauches des $R_{\text{I-3-E}}$-Wertes besteht darin, daß man die Schwankungen der R_f-Werte eliminiert und so gut vergleichbare Werte erhält. Für Sprossenkohl sind die Ergebnisse aus 5 Chromatogrammen in Tabelle 6 wiedergegeben. In Tabelle 7 sind analog der

Tabelle 6. *Indolkörper, welche bisher mit der Farbreaktion $HClO_4$-$FeCl_3$ im Sprossenkohl (Brassica oleracea var. gemmifera) gefunden wurden, charakterisiert durch Farbe des spots und $R_{I\text{-}3\text{-}E}$-Wert.*

Farbe der spots (Verbindung) ($HClO_4$+$FeCl_3$)	$R_{\text{I-3-E}}$ (Mittelwert aus 5 Chromatogrammen)	Bemerkungen
Rot	$0{,}77 \pm 0{,}04$	
Blaugrau	0,90	Einzelwert
Rot (I-3-E)	1,00	
Gelb	$1{,}145 \pm 0{,}005$	
Ockergelb	$1{,}81 \pm 0{,}06$	nur kurze Zeit beständig
Blauviolett (IAN)	$2{,}00 \pm 0{,}11$	tritt erst $^1/_2$ Std nach Besprühen auf
Gelb	$2{,}00 \pm 0{,}11$	vom blauvioletten spot (IAN) umschlossen
Rotorange	$2{,}18 \pm 0{,}08$	
Gelb	$2{,}24 \pm 0{,}19$	
Rotblau	2,3	Einzelwert

vorhergehenden die $R_{\text{I-3-E}}$-Werte einer Reihe uns zugänglicher Indolverbindungen angeführt.

Die Identität einer Indolverbindung aus einem Pflanzenextrakt mit der Modellsubstanz im Papierchromatogramm ist also auf Grund der Farbe des spot und seines $R_{\text{I-3-E}}$-Wertes gegeben. Mit Hilfe dieser Kriterien war es möglich, I-3-E und IAN im Sprossenkohlextrakt eindeutig nachzuweisen. Ein gelber Spot im Chromatogramm des Pflanzenextraktes dürfte I-3-P darstellen, wie ein Vergleich der $R_{\text{I-3-E}}$-Werte zeigte, eine eindeutige Identifizierung wird aber erst im Laufe weiterer Untersuchungen möglich sein. Eine besondere Eigenart zeigt der spot des IAN, welcher erst 30 min nach dem Besprühen mit $HClO_4$-$FeCl_3$ auftritt, und zwar an einer Stelle, wo sofort nach dem Besprühen ein gelber

Tabelle 7. *Synthetische Indolkörper mit der Farbreaktion $HClO_4$-$FeCl_3$ nachgewiesen, charakterisiert durch Farbe des spot und $R_{I\text{-}3\text{-}E}$-Wert.*

Farbe der spots ($HClO_4$ + $FeCl_3$)	Verbindung	$R_{I\text{-}3\text{-}E}$ Mittelwert aus durchschnittlich 5 Chromatogrammen	Bemerkungen
Gelb	Tryptophan	0,845 ± 0,005	
Rot	I-3-E	1,00	
Gelb	I-3-propionsäure	1,18 ± 0,03	
Gelb	I-3-buttersäure	1,39 ± 0,06	
Blauviolett . . .	I-3-acetonitril	2,12 ± 0,14	tritt erst 30 min nach Besprühen auf
Gelb	Skatol	2,07 ± 0,16	gleiche R_f- bzw. $R_{I\text{-}3\text{-}E}$-Werte machen eine Bestimmung ohne vorherige Trennung unmöglich
Gelbviolett . . .	α-Methyl-indol	2,07 ± 0,16	
Rot	Indol	2,07 ± 0,16	

spot sitzt. Dieser wird von dem blauvioletten IAN-spot umschlossen, doch bleibt im Mittelpunkt der gelbe spot erhalten. Es scheint also hier eine Indolverbindung, welche denselben R_f- bzw. $R_{I\text{-}3\text{-}E}$-Wert wie IAN besitzt, vorzuliegen. Mit größter Wahrscheinlichkeit handelt es sich hier um Skatol, wie ein Vergleich mit Tabelle 7 zeigt. Neben diesen 2 mit Sicherheit und 2 mit einiger Wahrscheinlichkeit identifizierten Indolverbindungen im Sprossenkohlextrakt liegen noch mindestens weitere 6 Verbindungen vor, welche von uns aus Mangel an den entsprechenden Modellsubstanzen bis jetzt nicht genauer bestimmt werden konnten, doch ist zu vermuten, daß es sich auch bei diesen Verbindungen um solche, die bereits in Übersicht 1 eingeordnet sind, handelt.

Einige wenige Versuche mit Kohl-Extrakten brachten qualitativ die gleichen Ergebnisse wie die Versuche mit Sprossenkohlextrakten.

Bei der Kombination der Säulen- mit der Papierchromatographie zeigte sich überraschend, daß an Al_2O_3 nach den früher geschilderten Methoden (Linser 1951 und Linser und Maschek 1953) in den einzelnen Säulenabschnitten keine sehr scharfe Ausgliederung der Indolkörper erfolgt. Obwohl beispielsweise bei einem Extrakt aus den gelben, inneren Blättern eines Kohlkopfes in einer 21 cm langen Säule von Al_2O_3 sechs durch gänzlich verschiedene Fluorescenzfarben deutlich gegliederte Abschnitte unterschieden und voneinander getrennt werden konnten, fanden sich nach Elution und Papierchromatographie der in Äther überführten Eluate in allen Abschnitten die gleichen spots, allerdings in verschiedener Intensität. Dies zeigt die Zusammenstellung in Tabelle 8.

In keinem Falle konnte hier I-3-E gefunden werden. Bei den Eluaten der Abschnitte 2 und 3 zeigte sich zwischen dem Rot des spot 0,83 und dem Violett des spot 0,88 eine schmale gelbe Zone, welche im Eluat der Zone 4 nicht sichtbar war. Ein wesentlicher Unterschied der Indolkörper

Tabelle 8. *Kohl, Alkoholextrakt aus gelben Blättern aus dem Inneren des Kopfes.* Chromatogramm an Al_2O_3 (21 × 2 cm).

Abschnitt Nr.	Länge mm	Fluorescenzfarbe	Papierchromatographisches Ergebnis am Eluat: Farbreaktion (R_Z)	Intensität des spot
1	17	gelb	gelb (0,80), violett (0,88)	sehr schwach
2	52	undefiniert	rotviolett (0,76), gelb (0,80), rot (0,83), violett (0,88)	stark
3	58	grünlich	desgl.	stark
4	36	blau (+ wenig violett)	„	sehr stark
5	35	violett	gelb (0,80), violett (0,88)	sehr schwach
6	12	rot	? ?	kaum sichtbar
Filtrat	—		orange (instabil 0,63), gelb, rot (0,81), gelb	sehr stark

bestand jedoch nur zwischen dem Adsorbat und dem Filtrat der Säule. Das Filtrat zeigte deutlich zwei verschiedene Indolkörper, von welchen einer (instabil orange 0,63) möglicherweise dem Stoff der Zone „B" A. Fischers (1954) entspricht, der andere aber weder den R_z-Wert noch das Farbverhalten des Indol-3-acetonitrils aufwies.

Diese Ergebnisse zeigten, daß keine optimale Aufgliederung der Indolkörper an der Säule erfolgt. Möglicherweise gehen an der Säule irgendwelche Veränderungen an den Indolkörpern vor sich, welche erst zur Entstehung der in den spots nachweisbaren (Spalt-?) Produkte führen; es kann daher nicht mit Sicherheit behauptet werden, daß die sich in den spots nachweisbar machenden Stoffe im Pflanzenextrakt bereits vor der Säulenchromatographie vorgelegen haben. Wenn auch dem von uns eingangs geschilderten Reinigungsverfahren das gleiche Bedenken entgegengehalten werden kann, so glauben wir doch, daß es zweckmäßiger ist, dieses an Stelle der Säulen chromatographisch anzuwenden, da es einfacher ist, und direkt zu einer quantitativ arbeitenden Papierchromatographie herangezogen werden kann.

Die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen methodischen Erfahrungen bieten die Grundlage für weitere Untersuchungen über das Verhalten der wuchsstoffwirksamen sowie sonstigen Indolverbindungen im Verlauf der Entwicklung und Wachstumsvorgänge verschiedener *Brassica*-Arten.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode beschrieben, welche die Reinigung von Extrakten aus chlorophyllhaltigem Pflanzenmaterial für papierchromatographische Zwecke ermöglicht und die Eluate der gewonnenen „spots" im Pastentest zu prüfen gestattet.

2. Weißkraut-, Kohl- und Sprossenkohlextrakte wurden papierchromatographisch auf ihren Gehalt an Indolkörpern und deren physiologische Wirkung im Pastentest geprüft. Dabei konnten eindeutig Indol-3-essigsäure und Indol-3-acetonitril nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden. Die Gegenwart von Indol-3-propionsäure und Skatol konnte wahrscheinlich gemacht werden.

3. Insgesamt wurden 10 verschiedene Stoffe, welche die Indolreaktion mit Perchlorsäure-$FeCl_3$ liefern, papierchromatographisch beim Sprossenkohl nachgewiesen, wobei mindestens zwei (noch nicht identifizierte) starke Wirksamkeit als Zellstreckungswuchsstoffe besitzen.

4. Neben den indolartigen Wuchsstoffen konnte papierchromatographisch die Gegenwart mindestens eines nicht indolartigen Wuchsstoffes im niedrigen R_f-Bereich und eines solchen in hohem R_f-Bereich wahrscheinlich gemacht werden.

5. Neben der Papierchromatographie der Indolkörper erfolgte auch eine Beobachtung der fluorescierenden Inhaltsstoffe der *Brassica*-Arten auf den Papierchromatogrammen.

Literatur.

Bennet-Clark, T. A., M. S. Tambiah and N. P. Kefford: Estimation of plant growth substances by partition chromatography. Nature (Lond.) **169**, 452 (1952). — Berger, J., and G. S. Avery: Isolation of an auxin precursor and an auxin (indolacetic acid) from Maize. Amer. J. Bot. **31**, 199—203 (1944). — Cramer, F.: Papierchromatographie. Monogr. z. „Angew. Chem." u. „Chem.-Ing.-Techn.". Weinheim 1953. — Danliker, W.: The isolation of 3-indolacetic acid from immature corn. Diss. Col. Inst. of Technol., Pasadena 1945. — Denffer, D. v., M. Behrens u. A. Fischer: Papierchromatographischer und papierelektrophoretischer Nachweis des β-Indolacetonitrils und des β-Indolaldehyds in Extrakten aus Kohlpflanzen. Naturwiss. **39**, 550 (1952). — Denffer, D. v., M. Behrens u. A. Fischer: Papierchromatographische Trennung von Indolderivaten aus Pflanzenextrakten. Naturwiss. **39**, 258 (1952). — Denffer, D. v., u. A. Fischer: Papierchromatographischer Nachweis des β-Indolaldehyds in photolytisch zersetzter Indolessigsäure-Lösung. Naturwiss. **39**, 549 (1952). — Fischer, A.: Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Planta (Berl.) **43**, 288—314 (1954). — Gordon, S. A., and R. P. Weber: Colorimetric estimation of indolacetic acid. Plant Physiol. **26**, 192 (1951). — Hagen-Smith, A. J., W. B. Danliker, S. H. Wittwer and A. E. Murneck: Isolation of 3-indolacetic acid from immature corn kernel. Amer. J. Bot. **33**, 118—119 (1946). — Jamaki, Toshio, and Kochiro Nakamura: Formation of indolacetic acid in maize embryo. Sci. Pap. Coll. Gen. Edue. Univ. Tokyo Biol. **2** (1) 181—198 (1952). — Jerchel, D., u. R. Müller: Papierchromatographie der γ-Indolessigsäure. Naturwiss. **38**, 561 (1951). — Jones, E. R. H., H. B. Henbest, G. F. Smith and J. A. Bentley: 3-Indolacetonitrile: a naturally occuring plant growth hormone. Nature (Lond.) **169**, 485 (1952). — Larsen, P.: 3-Indolacetaldehyde as a growth hormone in higher plants. Dansk bot. Ark. **11**, 1—123 (1944). — Lefèvre, J.: Sur la présence normale d'acides indoliques et particulièrement de l'acide indol-3-acétique dans diverses plantes supérieures. C. r.

Acad. Sci. Paris **206**, 1675—1677 (1938). — Linser, H.: Zur Methodik der Wuchsstoffbestimmung. Planta (Berl.) **28**, 227 (1938). — Zur Methodik der Wuchsstoffbestimmung. II. Planta (Berl.) **29**, 392 (1939). — Über das Vorkommen von Hemmstoff in Pflanzenextrakten. Planta (Berl.) **31**, 32—59 (1940). — Versuche zur chromatographischen Trennung von Wuchs- und Hemmstoffen. Planta (Berl.) **39**, 377 (1951). — Linser, H., u. F. Maschek: Colorimetrische und biologische Bestimmung sowie chromatographische Trennung von Wuchsstoffen aus Pflanzen. Planta (Berl.) **41**, 567 (1953). — Tens, H. J., and A. C. Newton: Tryptophan, niacin and indolacetic acid in several endosperm mutants and standard lines of maize. Plant Physiol. **26** (3), 494—501 (1951). — Vlitos, A. J., and W. Meudt: The rôle of auxin in plant flowering. I. A quantitative method based on paper chromatography for the determination of indole compounds and of 3-indolacetic acid in plant tissues. Contrib. Boyce Thompson Inst. **17**, 197—202 (1953). — Weller, L. E., S. H. Wittwer and H. M. Sell: The detection of 3-indolacetic acid in cauliflower heads. Chromatographic behaviour of some indole compounds. J. Amer. Chem. Soc. **76**, 629—630 (1954).

Privatdozent Dr. H. Linser, Linz a. d. Donau, Landstraße 115.

Planta, Bd. 44, S. 121—135 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock.

ÜBER FÖRDERUNG UND HEMMUNG DER ENTWICKLUNG VON AXILLARSPROSSEN DURCH WIRKSTOFFE.

Von

GERHARD MEINL und HERMANN VON GUTTENBERG.

(Eingegangen am 29. Mai 1954.)

1. Einleitung.

Die wachsende Spitze eines Dikotylenkeimlings übt bekanntlich einen korrelativen und zwar hemmenden Einfluß auf Entwicklung und Wachstum der Axillarknospen und -sprosse aus. Entfernt man die Spitze, so treiben die bisher ruhenden Axillarknospen aus. Über diese schon lange bekannte Tatsache liegt eine überaus reiche Literatur vor, die FERMAN (1938) bis zum Jahre 1938 so vollständig und ausführlich dargestellt hat, daß hier auf dessen Ausführungen verwiesen werden kann. Bemerkt sei nur, daß LAIBACH (1933) sowie THIMANN und SKOOG (1933/34) die ersten waren, die diese korrelative Beziehung unter den Gesichtspunkten der Wuchsstofforschung behandelten. Sie konnten zeigen, daß man nach Dekapitation das Austreiben von Achselknospen von *Vicia faba* verhindern kann, wenn man auf die Dekapitationsfläche Wuchsstoff in höherer Konzentration aufträgt. LAIBACH, der mit Orchideenpollinien arbeitete, hielt die Knospenhemmung für einen Sekundäreffekt, der mit den von ihm beobachteten Veränderungen im Wachstum der Hauptachse zusammenhängt. THIMANN und SKOOG stellten die Theorie auf, daß der reichliche, von der Spitze abströmende Wuchsstoff die Eigenproduktion von Auxin seitens der Achselsprosse unterdrücke. Eine solche trete erst ein, wenn die Spitze und damit der Wuchsstoffstrom entfernt wird.

FERMAN konnte dann für *Lupinus albus* zeigen, daß diese Theorie nicht aufrechterhalten werden kann. Er führte Heteroauxin (HA) in der Konzentration 10^{-7} bis 10^{-6} g/cm³ durch Röhrchen zu, die er auf die Stümpfe aufsetzte. Das Ergebnis war, daß die Konzentration 10^{-7} bis $5 \cdot 10^{-7}$ g/cm³ gegenüber Leitungswasser eine leichte Förderung des Wachstums der Achselsprosse ergab, 10^{-6} bereits eine bemerkbare Hemmung. Stärkere Konzentrationen verwendete FERMAN nicht, da sie unphysiologisch wären. Er glaubte, daß 10^{-6} g/cm³ des synthetischen Heteroauxins der Eigenkonzentration der Sproßspitze entspräche, und schenkt der beobachteten leichten Förderung bei 10^{-7} keine weitere Beachtung. Wie sich später zeigen wird, stellen diese Punkte die angreifbare Stelle in den Schlußfolgerungen von FERMAN dar. Er findet

bestätigt, daß der dekapitierten Spitze gebotenes HA das Wachstum der Achselsprosse hemmt, doch ist diese Hemmung viel schwächer als die durch die Spitze bewirkte, obwohl sich die zugeführte und die natürliche Auxinkonzentration etwa gleichen. Alle gehemmten Teile enthalten weniger Auxin als die ungehemmten; somit kann die Hemmung keinesfalls durch zu hohe Auxinkonzentration erklärt werden. Die Theorie von THIMANN und SKOOG ist deshalb nicht haltbar. Aber auch eine indirekte Wirkung, wie sie LAIBACH annahm, kann es nicht sein, da bei der verwendeten niederen Konzentration Veränderungen im Wachstum des Hauptsprosses nicht eintraten. FERMAN stellte auf Grund seines Gesamtergebnisses folgende neue Hypothese auf: Die jeweilige lokale Auxinproduktion hänge von der Versorgung mit einem „precursor" zusammen. Dieser wandere akropetal und werde von den Punkten angezogen, in denen sich die stärkste Auxinproduktion vollziehe. Daher erhielten die Stellen, die von Anfang an das meiste Auxin produzieren, den „precursor" laufend nachgeliefert, was wieder eine höhere Auxinproduktion bewirke. Darum würden die Knospen solange von der Belieferung mit „precursor" ausgeschlossen, als die Spitze vorhanden sei. Nach deren Verlust erhalten sie solchen und können nun durch Auxinproduktion austreiben. Bei künstlicher Zufuhr von HA zur dekapitierten Spitze hemme dessen Abfluß das Aufsteigen des „precursors" und damit die Auxinproduktion der Knospen. Während der erste Punkt der Theorie — nämlich die Heranziehung eines „precursors" — zur Erklärung der Erscheinungen große Wahrscheinlichkeit besitzt, erscheint der zweite Teil wenig glaubhaft. Es ist von vornherein nicht wahrscheinlich, daß das natürliche und das künstlich zugeführte Auxin bei ihrem Abfluß konträre Effekte haben sollten.

In mehreren Arbeiten versuchte WENT (1936, 1938a, 1938b, 1939) eine Erklärung der in Rede stehenden Korrelationen durch die Annahme besonderer, vom Auxin verschiedener Wuchsstoffe (bud growth hormons, caulocalin). In seiner letzten Arbeit bestätigt er, daß eine hohe HA-Konzentration das Austreiben der Knospen verhindert. Er findet ferner, daß die Entfernung der Knospe von der mit Auxin versorgten Spitze von großer Bedeutung ist. Ist sie groß, so resultiert eine lang andauernde Hemmung, ist sie gering, so ist die Hemmung nur schwach. Diese Erscheinung will WENT damit erklären, daß die fraglichen hypothetischen Sonderstoffe in der Hauptachse aufsteigen und sich bei Dekapitation ansammeln. Ist das erhalten gebliebene Stengelstück lang, so dauert es auch lange Zeit, bis es mit diesen aufsteigenden Stoffen erfüllt ist, und die Knospen erhalten zunächst nichts davon. Ist das Achsenstück aber kurz, so stehen den Knospen bald die nötigen Wirkstoffe zur Verfügung. FERMAN betont mit Recht, daß ein Auxinprecursor die gleiche Wirkung haben müsse, somit die Annahme von Sonderstoffen unnötig sei.

Als wir unsere Arbeit bereits begonnen hatten, erschien noch eine Untersuchung von Höhn (1951). Er konnte bei *Vicia faba* var. *equina* und *Linum usitatissimum* beobachten, daß Lanolinpasten von Wuchs- und Hemmstoffen in Abhängigkeit von ihrer Konzentration entscheidenden Einfluß auf die Entwicklung der Kotyledonar- bzw. Hypokotylknospen ausüben. Wurden *Vicia faba*-Keimlinge dicht unter dem Niederblatt dekapitiert und dann mit verschiedenen Pasten von HA, 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, Cumarin und Zimtsäure versorgt, so kam es zu einer von der jeweiligen Konzentration der Wirkstoffe abhängigen Ausbildung der Kotyledonarknospen. In diesen Versuchen förderten sowohl HA als auch 2,4-D in den Konzentrationen von 10^{-5} und 10^{-6} Mol. Zimtsäure und Cumarin vermögen nach Angaben von Höhn keine völlige Unterdrückung des Wachstums der Kotylare zu verursachen. Cumarin selbst zeigt nur eine ganz geringe Hemmwirkung, während diese bei Zimtsäure in deutlicheren Werten in Erscheinung trat. Höhn hält danach die Wirkung der ausgesprochenen Wuchsstoffe und die der Hemmstoffe nicht nur für quantitativ, sondern auch für qualitativ verschieden. Die Verwendung von Pasten hat jedoch den Nachteil, daß die tatsächliche Wirkstoffkonzentration in den Pflanzen immer nur geschätzt werden kann.

Im ganzen muß gesagt werden, daß das Problem der korrelativen Hemmung von Achselknospen durch die Sproßspitze keinesfalls ganz gelöst ist. In den folgenden Untersuchungen sollte versucht werden, einen weiteren Beitrag zur Klarlegung dieser Beziehungen zu liefern.

2. Material und Methode.

Die Untersuchungen wurden an *Phaseolus multiflorus*, „Holländische Prinzeß" und später „Nordstern" vorgenommen. Die Pflanzenanzucht erfolgte im Gewächshaus, zu je 2 Exemplaren in einem Topf. Der Test wurde so durchgeführt, daß die Hauptachse etwa 3 Wochen alter Pflanzen 1 cm über den Blattachseln des ersten oder zweiten Blattpaares abgeschnitten wurde. An Stelle der abgeschnittenen Spitze brachten wir ein etwa 2 cm langes Glasröhrchen an, das über den Stumpf geschoben und mit Agar gut abgedichtet wurde. Die jeweilige Wirkstofflösung konnte nun laufend mit einer Injektionsspritze eingefüllt werden, so daß während der ganzen Versuchsdauer die zu prüfende Lösung über dem Stumpf stand.

Zur Untersuchung kamen HA in den Konzentrationen $5 \cdot 10^{-3}$ bis 10^{-7} g/cm^3, Cumarin von 10^{-3} bis 10^{-5}, sowie Kombinationen von Cumarin und HA. Darüber hinaus prüften wir die Wirkung von 2,4-D, 2,3,5-Trijodbenzoesäure, Phenylurethan und Tryptophan.

Der Entwicklungsgrad der Achseltriebe, nach 6 Tagen gemessen, hing, wie gezeigt werden soll, von der Art und Konzentration des Wirkstoffes

ab. Soweit einzelne Versuche länger dauerten, wird dies an den betreffenden Stellen vermerkt werden.

3. Versuchsergebnisse.

Nach 6tägiger Versuchsdauer zeigten die Pflanzen mit einem Blattpaar bei Verwendung von HA-Lösungen verschiedener Konzentration folgende Achseltrieblängen. Die in den Tabellen angegebenen Längen stellen die Durchschnittswerte von jeweils 8 Pflanzen dar.

Tabelle 1. *Achseltrieblängen von Phaseolus multiflorus (Holländische Prinzeß) bei Verwendung von HA-Lösungen nach 6 Tagen Behandlungsdauer.*

HA-Konzentration g/cm³	Länge der Achselsprosse in mm					
	Serie 1		Serie 2		Serie 3	
	I	II	I	II	I	II
$5 \cdot 10^{-3}$	0	0	0	0	0	0
10^{-3}	3	4	2	2	4	2
10^{-4}	9	12	10	14	8	7
10^{-5}	19	17	20	19	24	22
10^{-6}	37	34	32	28	32	34
10^{-7}	43	52	32	42	44	49
Wasserkontrolle	38	32	29	34	32	36

I = linker, II = rechter Achselsproß.

Die dekapitierte Hauptachse zeigte während der Behandlung keinerlei Wachstum und behielt ihre normalgrüne Färbung.

Aus der Tabelle 1 ist zu ersehen, daß HA $5 \cdot 10^{-3}$ bei unserem Versuchsobjekt die Entwicklung der Achselsprosse vollständig unterdrückt. In der Konzentration 10^{-3} kommt es bereits zu einer stark gehemmten Entwicklung. Die Konzentrationen 10^{-4} und 10^{-5} hemmen das Wachstum der Achselknospen in abnehmendem Maße. Die Wirkung der HA-Konzentrationen 10^{-6} entspricht etwa der der Wasserkontrolle. HA 10^{-7} dagegen zeigte in jedem Falle eine Förderung des Achselsproßwachstums, die sich nach 12tägiger Versuchsdauer, noch auffälliger als in unserer Tabelle angegeben, bemerkbar machte.

Eine ähnliche Beobachtung machte bereits vor uns FERMAN bei Versuchen mit *Lupinus albus*. Dieser Autor stellte ferner fest, daß bei ungleicher Größe der Achseltriebe der längere die Entwicklung des kürzeren hemmt. Aus diesem Grunde sind in unseren Versuchen nur solche Pflanzen zur Beobachtung herangezogen worden, die zumindest während der ersten 3 Versuchstage eine gleiche Entwicklung der Achseltriebe erkennen ließen. Damit waren von vornherein unkontrollierbare Hemmungen der Achseltriebe untereinander ausgeschlossen.

Die Versuchsergebnisse bei Verwendung von HA 10^{-7} stehen im völligen Widerspruch zu der verbreiteten Annahme, daß die Hemmung der Achselknospen bei Pflanzen mit intakter Spitze durch den normalen basipetal wandernden Wuchsstoffstrom verursacht werde. Bereits FERMAN wies auf diesen Irrtum hin.

In einer weiteren Versuchsserie, in der Versuchspflanzen mit 2 übereinander entwickelten Blattpaaren bei entsprechender Behandlung mit HA-Lösungen zur Untersuchung kamen, beobachteten wir folgendes Verhalten (Tabelle 2).

Zur Erläuterung der Tabelle 2 sei folgendes gesagt: In der Spalte a sind die Gesamtlängen der Achselsprosse des oberen, in der Spalte b die des unteren Blattpaares eingetragen. Bei Betrachtung der Tabelle 2 zeigt sich deutlich, daß die unteren Achselsprosse durch HA 10^{-3} und 10^{-4} weniger gehemmt werden als die oberen. Behandelten wir aber die Pflanzen mit HA 10^{-4} etwa 20 Tage lang, so kehrte sich der Effekt um, d. h. die unteren Achselsprosse waren jetzt kürzer, somit stärker gehemmt. In den Konzentrationen 10^{-6} und 10^{-7}, sowie bei den Kontrollpflanzen erfolgte diese unterschiedliche Entwicklung schon nach 4tägiger Behandlungsdauer. Während bis zu diesem Zeitpunkt die oberen und unteren Seitentriebe eine gleichmäßige Entwicklung durchliefen, fielen die unteren im anschließenden Zeitraum in ihrer Längenentwicklung zurück. In Tabelle 2 tritt die fördernde Wirkung von HA 10^{-7} auf das obere, also wuchsstoffnahe Sproßpaar noch auffälliger hervor als in Tabelle 1. Die starke Förderung dieser Sprosse hemmte dagegen deutlich die unteren; das ergibt sich aus dem Vergleich mit dem Verhalten bei Zufuhr von HA 10^{-6}.

Tabelle 2. *6tägige Einwirkung von HA auf die Achselsprosse des ersten und zweiten Blattpaares. Die Längen der beiden Achselsprosse des ersten (unteren) bzw. zweiten (oberen) Blattpaares sind jeweils addiert.*

HA-Konzentration	Länge der Achselsprosse in mm					
	Serie 1		Serie 2		Serie 3	
g/cm³	a	b	a	b	a	b
$5 \cdot 10^{-3}$	0	6	0	8	0	8
10^{-3}	12	16	14	16	18	9
10^{-4}	18	28	17	26	14	25
10^{-5}	36	24	31	28	41	39
10^{-6}	61	42	69	56	64	58
10^{-7}	94	29	89	48	87	42
Wasserkontrolle	75	56	69	54	62	48

a = oberes, b = unteres Achselsproßpaar.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die oberen Achselsprosse in ihrem Wachstum weitestgehend von der Konzentration des HA beeinflußt werden; dabei *hemmen* die Konzentrationen 10^{-3} bis 10^{-5}, 10^{-6} verhält sich etwa *neutral* und 10^{-7} *fördert* das Wachstum. Bei der Entwicklung der unteren Seitensprosse spielt der Entwicklungsgrad der oberen eine wesentliche Rolle. Das anfänglich gleichartige Verhalten beider darf wohl auf die noch mangelhafte Entwicklung und damit geringe Einflußnahme der oberen Seitensprosse zurückgeführt werden. Später üben sie einen deutlich hemmenden Einfluß aus. Somit erfolgt die Entwicklungshemmung der Seitenknospen nicht nur durch die apikale Endknospe, sondern auch durch die Endknospen der oberen Seitensprosse.

Auch bei Verwendung von Cumarin ergab sich, daß die Röhrchenmethode viel klarere Ergebnisse lieferte als die Anwendung von Pasten. Die verschiedenen Konzentrationen von Cumarin ergaben folgende Wirkungen (Tabelle 3).

Aus den Daten der Tabelle 3 ist zu ersehen, daß Cumarin 10^{-3} g/cm³ die Entwicklung und das Austreiben der Achselknospen vollständig zu unterdrücken vermag. Diese Konzentration wirkt also stärker als die entsprechende von HA. Die Wirkung der Konzentrationen $5 \cdot 10^{-4}$ bis $5 \cdot 10^{-5}$ war eine laufend abnehmende; sie erlosch bei 10^{-5} g/cm³. In der Untersuchungsreihe von Pflanzen mit 2 Blattpaaren erhielten wir bei Cumarinbehandlung folgende Ergebnisse (Tabelle 4).

Tabelle 3. *Einwirkung von Cumarin auf die Entwicklung der Achselknospen des ersten Blattpaares. Behandlungsdauer 6 Tage.*

Cumarin-Konzentration	Länge der Achselsprosse in mm					
	Serie 1		Serie 2		Serie 3	
g/cm³	I	II	I	II	I	II
10^{-3}	0	0	0	0	0	0
$5 \cdot 10^{-4}$	8	10	9	12	6	9
10^{-4}	14	13	12	18	12	9
$5 \cdot 10^{-5}$	30	23	19	31	26	28
10^{-5}	38	41	40	37	36	38
Wasserkontrolle	37	40	42	45	36	39

Tabelle 4. *Einwirkung von Cumarin auf die Entwicklung der Achselsprosse des ersten und zweiten Blattpaares. Die Längen der Achselsprosse des ersten bzw. zweiten Blattpaares sind jeweils addiert. Behandlungsdauer 6 Tage.*

Cumarinkonzentration	Gesamtlänge der Achselsprosse in mm					
	Serie 1		Serie 2		Serie 3	
g/cm³	a	b	a	b	a	b
$5 \cdot 10^{-3}$	0	0	0	0	0	0
10^{-3}	0	8	0	12	0	14
10^{-4}	26	68	29	66	24	715
10^{-5}	62	41	75	48	72	41
Wasserkontrolle	71	31	68	35	79	4

Hier fällt zunächst auf, daß Cumarin $5 \cdot 10^{-3}$ auch das Austreiben der unteren Achselknospen während 6tägiger Versuchsdauer unterdrückte. Nach dieser Zeit jedoch begannen, wenn auch nur sehr langsam, die unteren auszutreiben. Die Konzentration 10^{-3} hemmte die oberen, war aber nicht länger als 3 Tage in der Lage das Austreiben der unteren Achselsprosse zu verhindern; sie schob die Entwicklung also nur hinaus. In dem folgenden Konzentrationsbereich 10^{-4} wurden wiederum die oberen Anlagen entsprechend den Ergebnissen in Tabelle 3 in ihrer Entwicklung stark gehemmt, auf die unteren jedoch machte sich kein hemmender Einfluß bemerkbar; ganz im Gegenteil erfuhren jetzt die unteren Triebe eine sehr starke Förderung gegenüber der Wasserkontrolle. Ein umgekehrtes Verhalten zeigte sich bei Behandlung mit Cumarin 10^{-5}. Die oberen Seitentriebe wurden kaum mehr gehemmt, wohl aber die unteren. Dies kann nicht durch das Cumarin, sondern nur durch die oberen Achseltriebe bewirkt sein. Den gleichen Umschlag beobachteten wir ja auch bei der Verwendung von HA in der nicht mehr hemmenden

Konzentration 10^{-7}. Im Bereich Cumarin 10^{-4} dagegen strahlt die Wirkung des Cumarins nicht mehr bis zum unteren Seitensproßpaar aus. Offenbar sind nun auch die oberen Achseltriebe durch die Cumarinhemmung soweit zurückgeblieben, daß die auch keinen hemmenden Einfluß auf die unteren Triebe ausüben können. Daraus erklärt sich das gänzlich ungehemmte auffällige Wachstum dieser Sprosse.

Zu allen Cumarinversuchen muß bemerkt werden, daß die an den Seitensprossen ausgebildeten Blätter eine auffällige blau-grüne Färbung zeigten. Diese Beobachtung konnte auch bei den im Anschluß geschilderten Kombinationsversuchen gemacht werden. Diese Kombinationsversuche dürften insofern von Interesse sein, als bereits v. Guttenberg und Beyhtien (1952) bei Mischungen antagonistischer Stoffe sozusagen „Heilungseffekte" fanden. Es ergab sich nämlich, daß die schädigende Wirkung höherer Konzentrationen von HA oder Cumarin durch Gegengaben von förderndem KCl bzw. HA 10^{-7} aufgehoben wurde. So trat bei der Kombination von HA 10^{-7} und Cumarin 10^{-3} während der Deplasmolyse von Zellen der Blattunterseite von *Rhoeo discolor* keine Cumarinschädigung, sondern ein normaler Rückgang der Plasmolyse ein. Wie die Tabelle 5 zeigt, fanden wir auch bei unseren Untersuchungen solche Ausgleichseffekte. Die wesentlichsten, d. h. die in ihrer Wirkung interessantesten Kombinationen waren folgende (Tabelle 5).

Tabelle 5. *Einwirkung von HA und Cumarin auf Achselsprosse des ersten Blattpaares. Behandlungsdauer 6 Tage.*

HA-Konzentration g/cm³	Cumarinkonzentration g/cm³	Länge der Achselsprosse in mm					
		Serie 1		Serie 2		Serie 3	
		I	II	I	II	I	II
10^{-3}	10^{-3}	0	0	0	0	0	0
10^{-4}	10^{-4}	5	8	11	13	14	11
10^{-7}	10^{-3}	18	21	20	17	18	24
10^{-3}	10^{-5}	7	9	10	6	7	5
10^{-6}	10^{-4}	35	28	31	40	27	32
10^{-6}	10^{-3}	15	17	14	16	9	12
Wasserkontrolle . .		38	37	39	44	28	36

Wie nach den Ergebnissen, die in Tabelle 1 und 3 dargestellt sind, nicht anders zu erwarten, ließen HA 10^{-3} und Cumarin 10^{-3} keine Entwicklung der Achselknospen zu. Auch die Konzentrationen HA 10^{-4} und Cumarin 10^{-4} hemmten noch sehr stark, aber nicht im Sinne einer einfachen Summation.

Interessantere Ergebnisse lieferten die Kombinationen HA 10^{-7} und Cumarin 10^{-3}. Hier kommt es zu einer deutlichen, wenn auch langsamen Entwicklung der Achselsprosse. Wenn wir mit den Tabellen 1 und 3 vergleichen, so verläuft die Entwicklung mit etwa gleicher Intensität wie bei HA 10^{-5} allein. Wie früher gezeigt wurde, hemmt Cumarin 10^{-3} vollständig, während HA 10^{-7} eine leichte Förderung gegenüber der Kontrolle zeigte. Aus diesen beiden Wirkungen resultiert

nun das Ergebnis der Kombinationsversuche. Somit ist der ausgesprochene Hemmeffekt des Cumarins 10^{-3} „geheilt". HA 10^{-3} + Cumarin 10^{-5} hemmen erwartungsgemäß sehr stark. HA 10^{-6} + Cumarin 10^{-4} zeigen gegenüber der Kontrolle eine nur sehr geringe Hemmwirkung, während HA 10^{-6} + Cumarin 10^{-3} sich als bedeutend wirksamer, d. h. hemmender erweisen.

Verwendeten wir in unseren Versuchen 2,4-D so erhielten wir folgende Ergebnisse (Tabelle 6).

Wie den Werten der Tabelle 6 zu entnehmen ist, hemmt 2,4-D das Austreiben der Achselknospen bis zu einer Konzentration von 10^{-5} g/cm³ einschließlich. Erst 10^{-6} läßt eine kümmerliche Seitenachsenentwicklung zu. Die folgenden Konzentrationen 10^{-7} bis 10^{-11} hemmen in abnehmendem Maße. 10^{-11} und 10^{-12} (in der Tabelle nicht mehr angeführt) entsprechen in ihrer Wirkung der Wasserkontrolle. Vergleichen wir mit der HA-Einwirkung so fällt auf, dass HA 10^{-3} und 2,4-D 10^{-6} gleich intensiv wirken. Der Wirkung von HA 10^{-5} kann die Wirksamkeit von 2,4-D 10^{-8} zur Seite gestellt werden. Die zusätzliche Förderung von HA 10^{-7} besitzt jedoch in der Tabelle 6 kein Gegenstück. Die Konzentrationen 10^{-11} und 10^{-12} entsprechen praktisch der Wasserkontrolle. Diese Versuchsergebnisse bestätigen die Beobachtungen von OVERBEEK und Mitarbeitern (1950), daß die Wirksamkeit des 2,4-D um 2—3 Zehnerpotenzen höher liegt als die des HA. OVERBEEK führt diese Erscheinung darauf zurück, daß der Dissoziationsgrad der HA- bzw. 2,4-D-Moleküle ausschlaggebend für die Intensität der Wirkung sei. Wirksam sind nach diesen Autoren nur die undissoziierten HA- und 2,4-D-Moleküle. Ihre Zahl hängt von dem jeweiligen p_H der Lösung ab. Da unsere aqua dest. einen p_H von 6,1 hatte, entsprechen die Bedingungen ganz denen der OVERBEEKschen Versuche, wonach bei diesem p_H-Wert in einer 2,4-D-Lösung von 10^{-11} g/cm³ etwa gleich viele undissoziierte Moleküle vorliegen wie in einer von HA 10^{-8}.

Tabelle 6. *Einwirkung von 2,4-D auf die Entwicklung der Achselsprosse des ersten Blattpaares. Behandlungsdauer 6 Tage.*

2,4-D-Konzentration g/cm³	Länge der Achselsprosse in mm					
	Serie 1		Serie 2		Serie 3	
	I	II	I	II	I	II
10^{-3}	0	0	0	0	0	0
10^{-4}	0	0	0	0	0	0
10^{-5}	0	0	0	0	0	0
10^{-6}	3	4	2	5	0	4
10^{-7}	6	9	7	5	6	8
10^{-8}	17	14	21	14	13	18
10^{-9}	22	24	23	27	21	23
10^{-10}	30	29	34	38	31	36
10^{-11}	37	40	38	41	42	46
Wasserkontrolle	39	38	45	40	38	44

Zu unseren Versuchen sei weiter bemerkt, daß die Hauptsache unserer Versuchspflanzen nach 4tägiger Behandlungsdauer mit 2,4-D 10^{-3} bis 10^{-7} anzuschwellen begannen. Nach 10—15 Tagen waren die mit 10^{-3}

bis 10^{-5} behandelten Exemplare keulig angeschwollen und mit stark verkorktem, rissigem Gewebe überzogen. Der Umfang der mit 10^{-3} behandelten Pflanzen erreichte nach 3 Wochen mehr als 2 cm.

Querschnitte der Hauptachse zeigten, daß in dem verdickten Gewebe unzählige Wurzelanlagen angelegt worden waren. Die Art der Anlage läßt vermuten, daß das 2,4-D in den Siebgefäßen abwärts geströmt war und so eine gleichmäßige Verteilung erfahren hatte.

Untersuchungen mit 2,3,5-Trijodbenzoesäure zeigten, daß in den Konzentrationen 10^{-3} bis 10^{-6} keinerlei Entwicklung und Wachstum der Achselsprosse stattfand. Verwendeten wir Phenylurethan, eine Substanz, von der bekannt ist, daß sie hemmend auf die Atmung wirkt, so erhielten wir folgende Ergebnisse (Tabelle 7).

Tabelle 7. *Einwirkung von Phenylurethan auf die Entwicklung der Achselsprosse. Behandlungsdauer 6 Tage.*

Phenylurethan-Konzentration g/cm³	Länge der Achselsprosse in mm					
	Serie 1		Serie 2		Serie 3	
	I	II	I	II	I	II
10^{-3}	0	0	0	0	0	0
10^{-4}	0	3	4	2	3	6
10^{-5}	9	20	18	17	14	26
10^{-6}	22	26	31	28	22	31
Wasserkontrolle	34	38	37	42	46	41

Auch diese Substanz zeigt in den höheren Konzentrationsbereichen 10^{-3} bis 10^{-5} starke Hemmwirkung. Dazu sei bemerkt, daß in der Konzentration 10^{-3} die Stümpfe der Hauptachse, über die die Glasröhrchen geschoben waren, nach 3 Tagen abgestorben und tiefbraun gefärbt erschienen. Dies läßt vermuten, daß auch die gesamte meristematische Zone oberhalb der Blattachseln durch das Phenylurethan getötet worden war. Aber auch in Konzentrationen, in denen eine solche Schädigung nicht bemerkbar war, ergab sich eine deutliche Hemmung. Weitere Untersuchungen müßten entscheiden, ob die hemmende Wirkung des Phenylurethans nur über die Atmung oder in anderer Weise erfolgt. Die entwicklungshemmende Wirkung von Urethan wird in der Praxis (Handelspräparat Agermin) als Mittel gegen das Austreiben lagernder Kartoffel verwendet.

Als letzte Substanz wurde Tryptophan untersucht (Tabelle 8).

Wie aus Tabelle 8 zu ersehen ist, fördert diese Aminosäure in einer Konzentration 10^{-5} zwar nur schwach, aber in ähnlicher Weise wie HA 10^{-7}. Die mit Tryptophan behandelten Pflanzen machten einen weitaus kräftigeren Eindruck als die Kontrollen. Bei längerer Behandlungsdauer blühten sie früher und reichlicher als unbehandelte Exemplare.

Fügten wir dem Tryptophan Ascorbinsäure hinzu, so wurde die günstige Wirkung in der Tryptophankonzentration 10^{-5} noch etwas erhöht (Tabelle 9).

Die Beobachtung der Förderung des Wachstums durch Tryptophan + Vitamin C ist bereits von Wildmann, Ferri und Bonner (1947)

sowie SCHEUERMANN (1951) gemacht worden. Während die ersten Autoren nachwiesen, daß Tryptophan durch Vitamin C oxydativ zu HA desaminiert wird, demonstrierte SCHEUERMANN die unterschiedliche Wirkung von reinem und mit Vitamin C versetzten Tryptophan im Zylindertest. In ihren Versuchen war das reine Tryptophan fast wirkungslos, wogegen die Kombination mit Vitamin C eine deutliche Förderung erkennen ließ. In keinem Falle aber erreichte die oben beschriebene Kombination das Wirkungsoptimum des HA.

Tabelle 8. *Einwirkung von Tryptophan auf die Entwicklung der Achselsprosse. Behandlungsdauer 6 Tage.*

Tryptophan-Konzentration g/cm³	Länge der Achselsprosse in mm					
	Serie 1		Serie 2		Serie 3	
	I	II	I	II	I	II
10^{-4}	42	44	43	39	39	36
10^{-5}	51	42	44	49	43	50
Wasserkontrolle	43	45	39	40	42	44

In unseren Versuchen jedoch ist deutlich zu erkennen, daß der Wirkungsgrad des Tryptophans 10^{-5} schon ohne Vitamin C-Gabe nahe an den des HA 10^{-7} herankommt. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß Bohnenpflanzen, die 7 Tage vor ihrer Verwendung zum Test im Dunkelhaus gehalten wurden, auf Tryptophangaben kaum reagierten. Erst bei kombinierter Zuführung mit Vitamin C machten sich Wirkungen ähnlich denen bei Lichtpflanzen bemerkbar. Da wir wissen, daß die Vitamin C-Produktion im wesentlichen nur im Licht erfolgt (WIEDOW und v. GUTTENBERG 1952), ist dieses Verhalten durchaus verständlich. Unsere Lichtpflanzen besaßen offenbar genügend Vitamin C, um aus dem zugeführten Tryptophan etwas HA zu bilden. Nach unseren Untersuchungen zu urteilen, eignet sich die Bohne besonders gut für diesen Test. Wir haben bei entsprechenden Versuchen mit Haferkoleoptilen im Standardtest keinerlei Wirkung feststellen können.

Tabelle 9. *Einwirkung von Tryptophan und Ascorbinsäure auf die Entwicklung der Achselsprosse. Behandlungsdauer 6 Tage.*

Tryptophan-Konzentration g/cm³	Vit. C-Konzentration g/cm³	Länge der Achselsprosse in mm					
		Serie 1		Serie 2		Serie 3	
		I	II	I	II	I	II
10^{-4}	10^{-4}	42	46	43	39	48	44
10^{-5}	10^{-4}	53	54	49	46	56	49
Wasserkontrolle . .		42	46	44	39	43	45

4. Diskussion und Zusammenfassung.

Die Versuche, in denen dekapitierte Pflanzen durch Wuchsstoffe, im besonderen IES, behandelt wurden, führten zu einem überraschenden Ergebnis. Sie ergaben nämlich, daß der herabfließende Wuchsstoff innerhalb eines verhältnismäßig engen Konzentrationsbereiches einen dop-

pelten Effekt hat. Die Verdünnung 10^{-7} g/cm³ bewirkt gegenüber Wasserkontrollen eine leichte Förderung des Wachstums der Achselknospen, 10^{-6} gleicht in seinem Effekt dem der Wasserkontrolle, ab 10^{-5} beginnt eine Hemmwirkung, die bei etwa 10^{-3} total wird. Den gleichen Doppeleffekt beobachteten wir bei einer früheren Versuchsreihe (v. Guttenberg und Beythien 1952, v. Guttenberg und Meinl 1952). Die Wasserpermeabilität der Epidermiszellen von *Rhoeo discolor* wächst im Bereich einer HA-Lösung von 10^{-6} und 10^{-7}, wo sie ihr Maximum erreicht; die Konzentration 10^{-5} ist wirkungslos, d. h. gleicht in ihrem Effekt der Wasserkontrolle, und ab 10^{-4} beginnt eine Hemmung des Wassereintrittes, bis bei 10^{-3} Plasmazerstörung eintritt. Schon aus diesen Untersuchungen schlossen wir, daß sich bei der Konzentration 10^{-5} zwei Tendenzen kompensieren, nämlich die mit abnehmender Konzentration steigende Permeabilitätserhöhung und der von dieser Grenze ab beginnende Hemmeffekt. Anders ist es nicht zu erklären, daß diese Konzentration keinerlei physiologische Wirkung zeigt. Dem gleichen Phänomen begegnen wir auch jetzt. Auch hier zeigen sich zwei Tendenzen, nämlich die knospenfördernde und die knospenhemmende. Sie heben sich, wie in den oben geschilderten Untersuchungen, und zwar bei der Konzentration 10^{-6} auf. Daraus muß aber die Schlußfolgerung gezogen werden, *daß in Versuchen mit dekapitierten Sprossen der gleiche, einfache HA-Effekt vorliegt, wie er auch sonst vorkommt.* Der abströmende Strom künstlich zugeführten HAs hat somit *keinerlei besondere korrelative Wirkung.* Die natürliche Wuchsstoffversorgung bei erhaltener Spitze, die nach allen vorliegenden Erfahrungen eine HA-Konzentration von 10^{-6} bis 10^{-7} haben muß, kann also keinesfalls für die Knospenhemmung verantwortlich gemacht werden. Man hat sich in früheren Untersuchungen stets durch Verwendung hoher HA-Konzentrationen täuschen lassen, die hier, wie überall, wachstumshemmend wirken. Eine Bestätigung unserer Ansicht liefern auch die Versuche mit Hemmstoff. Cumarin hemmt, wie auch sonst in der Konzentration 10^{-3}, total, und die Hemmung nimmt ständig bis 10^{-5} ab, ein Wert, der schon unwirksam wie Wasser ist. Auch die Kombinationen von HA und Cumarin entsprechen ganz unseren Beobachtungen bei *Rhoeo.*

Nach dem Gesagten muß die Erklärung der Korrelation zwischen Spitzen- und Knospenwachstum in anderer Weise versucht werden. Dabei muß eine wohlbekannte Tatsache mit in den Kreis der Betrachtungen gezogen werden, die bisher in diesem Zusammenhang entweder gar nicht oder nur nebensächlich behandelt wurde. Es handelt sich um die Hemmung der Achselknospe durch ihr Tragblatt. Es ist bekannt, daß nach der Entfernung eines Laubblattes die Achselknospe auszutreiben pflegt, ja, daß dies auch an einem ganzen Strauch oder Baum eintreten kann, wenn Hagel oder Insektenfraß die jungen Blätter

vernichteten. Ferner muß auf zwei Beispiele unserer Flora hingewiesen werden, bei denen die Achselknospen sofort austreiben: es handelt sich hierbei um die Berberitze und die Kiefer. In beiden Fällen fehlen die Laubblätter, im ersten sind diese verdornt, im zweiten durch Schuppenblätter ersetzt. Über den Einfluß des Laubblattes auf die Entwicklung der Achselknospen liegen eine Reihe detaillierter Untersuchungen vor. Wir verweisen zunächst auf die Studien von DOSTÁL (1906, 1920). Entfernte er beispielsweise bei *Calamintha* das Tragblatt, so trieb die dazugehörige Achselknospe auch bei vorhandener Endknospe aus. In anderen Fällen genügte schon die Unterbindung der Assimilation des Blattes durch lokale Verdunklung um ein Austreiben zu ermöglichen. DOSTÁL schloß aus diesen Betrachtungen auf Hemmstoffe, die aus dem Blatt strömen und das Austreiben der Achselknospen verhindern. ÚHROVÁ (1934) konnte an *Bryophyllum crenatum* einen experimentellen Beweis für diese Vermutung bringen. Es gelang ihr einen im Blatt gebildeten Hemmstoff in Agar aufzufangen und in seiner Wirksamkeit an den gleichen Achselknospen des gleichen Objektes zu testen. Wurden die Blätter jedoch extrahiert, so ergaben die Extrakte immer nur Wachstumsförderungen der Knospen. Daß auch die Knospen selbst hemmende Stoffe enthalten, zeigte kürzlich HEMBERG (1949) an *Fraxinus*. Der Hemmstoffgehalt sinkt hierbei vom Herbst zum Frühjahr hin laufend ab und schwindet im Augenblick des Austreibens vollkommen. Vorher hatten bereits v. GUTTENBERG und LEHLE-JÖRGES (1947) an *Syringa*-Knospen gezeigt, daß der Wuchsstoffgehalt in ihnen vom Herbst zum Frühjahr hin ansteigt.

Alle diese Beobachtungen machen es sehr wahrscheinlich, daß die Achselknospen durch einen aus dem Laubblatt ausströmenden Hemmstoff in ihrer Entwicklung zurückgehalten werden. In seiner zusammenfassenden Arbeit von 1937 über die Beziehungen von End- und Seitenknospen spricht auch SNOW von einem besonderen Hemmstoff, der aus der Endknospe basalwärts abströmen und das Austreiben der Seitenknospen verhindern soll. Eine Extraktion dieses Stoffes war ihm jedoch nicht geglückt, und es ist schwer einzusehen, wie ein solcher Stoff aus der Endknospe gerade die Achselknospen erreichen und hemmen sollte.

Eine andere Meinung (vgl. BÜNNING 1954) geht nun auch in diesen Fällen dahin, daß der Auxinabfluß aus dem *Blatt* die Entwicklung der Knospen hindert. Wieder wird dabei an Versuche gedacht, in denen dem Blattstiel an Stelle der Spreite ein HA-Präparat geboten wird, worauf die Knospenhemmung erhalten bleibt. Hier liegt wohl der gleiche Irrtum vor wie früher; es ist uns nicht bekannt geworden, daß ein solcher Effekt schon bei normalen HA-Konzentrationen eintritt. Wir können somit annehmen, daß die Seitenknospen durch Hemmstoffe und Auxinmangel am Austreiben verhindert werden. Ihr Austreiben

erfordert somit eine Neubildung von Auxin, die die Hemmung überwindet oder in Fortfall bringt. Es muß indessen darauf hingewiesen werden, daß das Problem zweifellos noch komplizierter ist. Besonders bei Keimpflanzen bestehen die Knospen zunächst nur aus kleinen meristematischen Zellgruppen, die zu ihrer ersten Entwicklung vor allem Wirkstoffe des Plasmawachstums benötigen, und es bleibt vorläufig unentschieden, ob sie solche selbst enthalten oder bilden, oder ob sie auf deren Zufuhr angewiesen sind.

Wenn wir uns nun, wie gesagt, zwar der Ansicht FERMANs über die Wirkung künstlicher HA-Zufuhr keinesfalls anschließen können, so glauben wir doch, daß seine zweite Ansicht, daß bei dem Knospentreiben ein „precursor" eine wichtige Rolle spielt, große Wahrscheinlichkeit besitzt. Das kann heute mit sehr viel mehr Recht angenommen werden als im Jahre 1938. Obwohl darüber unseres Wissens keine besonderen Beobachtungen vorliegen, müssen wir jetzt annehmen, daß nicht nur die Koleoptilen durch einen aufsteigenden Strom von Proauxin versorgt werden, sondern auch die Sprosse. Man denke bloß an die Entwicklung des Epikotyls der dikotylen Keimpflanzen, die Proauxin für ihr Wachstum aus den Kotyledonen erhalten müssen. Diese sind wie das Gramineenendosperm auxinreich und auch hier muß für die akropetale Wanderung das Auxin erst in Proauxin umgewandelt werden, wenn es nicht schon selbst in dieser Form vorliegt. Das aufsteigende Proauxin wiederum muß in der Sproßspitze in das später abfließende Auxin zurückverwandelt werden. Bei älteren Pflanzen dürfte das Proauxin aus der Achse stammen; für seine Bildung könnte auch die Wurzel von Bedeutung sein, fand doch WENT (1938), daß sein „caulocalin" aus der Wurzel stammt. Es ist übrigens durchaus möglich, daß auch der hemmende Einfluß des Tragblattes wenigstens zum Teil darauf beruht, daß es einer Proauxinzufuhr bedarf und so der Knospe diesen Stoff entzieht. Bestehen diese Annahmen zu Recht, so ergibt sich ein Verständnis nicht nur für unsere Ergebnisse, sondern auch für die von FERMAN und WENT. In dem Moment, wo die Spitze entfernt wird, unterbleibt die Umwandlung des aufsteigenden Proauxins in Auxin. Dieser mangelnde Verbrauch bedingt die von WENT geforderte Anhäufung. Nur wären es nicht Sonderstoffe, sondern Proauxin, das sich ansammelt. Entsprechend seinen Versuchen erreicht der Proauxinspiegel die Knospenhöhe um so später, je länger der erhalten gebliebene Sproßabschnitt ist, und bewirkt hier das Austreiben dieser Organe, indem sie selbst die Umwandlung in Auxin vornehmen. Bei bloßer Entfernung des Tragblattes ermöglicht oftmals schon der Fortfall des Hemmstoffes das Austreiben.

Unsere Hypothese macht auch verständlich, wieso die höher inserierten Seitentriebe ihrerseits die tieferen hemmen: sie sind dem sich

von oben her häufenden Proauxin am nächsten, verbrauchen also den größeren Teil durch Auxinproduktion in ihrer Endknospe und für die tieferen Knospen bleibt nur noch ein Rest übrig. Vor allem dürfte auch hier die Regel gelten, daß höherer Verbrauch auch einen lebhafteren Zustrom bewirkt.

Wir hörten früher, daß auch bei künstlicher Zufuhr von förderndem HA bei zwei Blattpaaren das höher gelegene zunächst stärker gefördert wird als das tiefere. Das hat nach unserer Meinung eine ganz andere Ursache, nämlich die, daß die der Auxinquelle näheren Abschnitte das Auxin *selbst* eher erhalten und während ihres Wachstums verbrauchen; somit erhalten die tieferen Seitentriebe nur wenig davon. Das gleiche gilt für den Hemmstoff Cumarin. Bei Darbietung von HA in fördernder Konzentration ist überdies an eine Summation zu denken: auch jetzt muß sich ja zusätzlich Proauxin ansammeln und in fördernden Wuchsstoff verwandelt werden. Umgekehrt kann so die Hemmwirkung von Cumarin eine Abbremsung erfahren.

Zusammenfassend können wir also feststellen:

1. Künstliche Zufuhr von Wuchsstoffen bewirkt wie in allen übrigen Fällen, je nach der Konzentration, Förderung oder Hemmung der Achselknospen und -triebe. Da die Eigenproduktion von Wuchsstoff im fördernden (oder neutralen) Konzentrationsbereich liegt, kann sie keinesfalls für die Knospenhemmung verantwortlich gemacht werden.

2. Hemmstoffe wirken wie überall entsprechend der Konzentration auch auf die Achselknospen hemmend.

3. Alle eigenen und früheren Beobachtungen über die Korrelation zwischen Sproßspitze und Knospenwachstum lassen sich unter folgender Annahme erklären: Im Sproß verläuft ein aufsteigender Strom von Proauxin, der normalerweise, sobald er die Spitze erreicht, in dieser in absteigendes Auxin verwandelt wird. Macht man durch Entfernung der Spitze diese Umwandlung unmöglich, so sammelt sich das Proauxin in dem Stumpf an. Sobald der Proauxinspiegel von oben her bis auf die Höhe der Achselknospen herabsteigt, übernehmen diese die Umwandlung des Proauxins in Auxin, was zu ihrem Austreiben führt. Vorher waren sie durch Hemmstoffe, die wahrscheinlich aus dem zugehörigen Laubblatt abfließen, am Austreiben gehindert worden. Entfernen des Tragblattes ermöglicht das Austreiben durch Fortfall dieser Hemmung.

4. Tiefere Knospen und Triebe werden dabei durch die sich entwickelnden höheren gehemmt, da diese vom Proauxin vorher erreicht werden und es zum Teil verbrauchen, vermutlich auch infolge des Verbrauches anziehen. Bei künstlicher Versorgung der Spitze mit förderndem Auxin oder hemmenden Stoffen müssen entsprechend die höher inserierten Achselsprosse durch diese Wirkstoffe selbst stärker gefördert oder gehemmt werden.

Literatur.

BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Heidelberg 1953. — DOSTÁL, R.: Ber. dtsch. bot. Ges. **27**, 547 (1909). — Acta Soc. Sci. Nat. Moravicae **3**, 83 (1926). — FERMAN, I. H. G.: Rec. Trav. bot. néerl. **35**, 177 (1938). — GUTTENBERG, H. v., u. A. BEYTHIEN: Planta (Berl.) **40**, 26 (1952). — GUTTENBERG, H. v., u. E. LEHLE-JÖRGES: Planta (Berl.) **35**, 281 (1948). — GUTTENBERG, H. v., u. G. MEINL: Planta (Berl.) **40**, 431 (1952). — HEMBERG, T.: Physiol. Plantarum **1**, 37 (1949). — HÖHN, K.: Planta (Berl.) **39**, 338 (1951). — LAIBACH, F.: Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, 336 (1933). — OVERBEEK, J. van, R. BLONDEAU and V. HORNE: Plant Physiol. **26**, 687 (1951). — SCHEUERMANN, R.: Planta (Berl.) **40**, 265 (1952). — SNOW, R.: New Phytologist **36**, 283 (1937). — THIMANN, K. V., and F. SKOOG: Proc. Nat. Acat Sci. U.S.A. **19**, 714 (1933). — ÚHROVÁ, A.: Planta (Berl.) **22**, 411 (1934). — WENT, F. W.: Biol. Zbl. **56**, 449 (1936). — Plant Physiol. **13**, 55 (1938); Amer. J. Bot. **25**, 44 (1938); **26**, 109 (1939). — WIEDOW, H. L., u. H. v. GUTTENBERG: Planta (Berl.) **41**, 589 (1953). — WILDMAN, S. G., C. FERRI and J. BONNER: Arch. of Biochem. **13**, 131 (1947).

Prof. Dr. H. v. GUTTENBERG, Rostock, Doberanerstr. 143.

Planta, Bd. 44, S. 136—146 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

ZUR FRAGE EINER WUCHSSTOFFINDUZIERTEN, NICHTOSMOTISCHEN WASSERAUFNAHME BEI DER ZELLSTRECKUNG.

Von

R. POHL.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juni 1954.)

A. Einleitung.

Die Zellstreckung der *Avena*-Koleoptile wird durch Wuchsstoff auf zweierlei Weise aktiviert: geringe Wuchsstoffkonzentrationen erhöhen die Wasserpermeabilität ihrer jungen, streckungsfähigen Zellen und stärkere Konzentrationen dazu noch deren Saugkräfte (POHL 1939, 1948, 1953 a, b). Während die Permeabilitätsreaktion direkt proportional mit der Wuchsstoffmenge in bestimmten Grenzen ansteigt, verläuft die Beeinflussung der Saugkraft proportional dem Logarithmus der Wirkstoffkonzentration.

Die Voraussetzung für eine Zellstreckung, die durch eine Permeabilitätsänderung für Wasser zustande kommt, ist das Vorhandensein einer Saugkraft der Zellen — kein Gleichgewicht zwischen Vacuole und Außenmedium — und eine hohe Plastizität der Zellwände. Beides trifft für die Koleoptile zu. Einerseits erfolgt in ihrer Streckungszone die Wasserversorgung der einzelnen Zelle nicht, wie Versuche mit Fluorescenzfarbstoffen ergaben (POHL 1954), durch ein Intermicellarsystem der Wand, sondern von Plasma zu Plasma, wodurch ein hoher Filtrationswiderstand gegeben ist. Andererseits sind die Dehnungseigenschaften der jungen Zellwände so beschaffen, daß bereits eine geringe Dehnung auch ohne Wuchsstoff eine irreversible Vergrößerung der Zelle zur Folge hat (POHL 1953 b). Dabei bleibt die Zellwand um einen bestimmten Betrag elastisch gespannt, wodurch ein Wanddruck gegeben ist, der die für die Festigung der Koleoptile erforderliche Turgescenz gewährleistet.

Die durch hohe Wuchsstoffkonzentrationen ausgelösten Saugkraftänderungen sind nun, wie bereits WENT (1928) postulierte, durch eine Herabsetzung eben dieses Wanddruckes möglich. Eine Erhöhung der Dehnungseigenschaften der Wand, insbesondere der plastischen Dehnbarkeit, ist bekanntlich oftmals an unter Wuchsstoffeinwirkung stehenden wachsenden Geweben gemessen worden. Sie wurde als Ursache des Streckungsvorganges gedeutet.

Dieser Schluß ist aber nicht zwingend, da die Änderung der Wandeigenschaften auch als Folge der Beanspruchung der Wand durch die beim Wachstum gegebene Wasseraufnahme der Vacuole ausgelegt werden kann, wie es der Fall ist, wenn die Streckung durch eine Permeabilitätsänderung ausgelöst wird. Ist sie aber Folge des Wachstums, dann kann eine Saugkrafterhöhung durch Wuchsstoff nur auf nichtosmotischem Wege eintreten, da beim Wachstum keine Erhöhung des osmotischen Wertes des Zellinhaltes gemessen werden kann.

Eine nichtosmotische Wasseraufnahme der ausgewachsenen Zelle wurde von BOGEN und PRELL (1953) und BOGEN (1953) aufgezeigt, als Wuchsstoffwirkung bei der jungen Zelle vom Verfasser (POHL 1947) in Form einer Elektrosmose postuliert und auch von anderer Stelle (HACKETT und THIMANN 1953) als möglich diskutiert.

Die Frage ist aber noch offen, ob die 2. Wuchsstoffreaktion bei der Zellstreckung in einer Herabsetzung des Wanddruckes besteht oder eine Wasseraufnahme darstellt, die auf nichtosmotischem Wege energetisiert wird.

Nachstehende Versuche sollen einen Beitrag zu diesem Problem geben.

B. Material und Methode.

Die Anzucht der für die Versuche verwandten *Avena*-Koleoptilen (Svalöfs Siegeshafer) erfolgte nach der an anderer Stelle (POHL 1953 b) ausführlich beschriebenen Weise. 12 Std vor dem Versuch wurden die Koleoptilen entkornt, die bei Versuchsbeginn eine Länge von 1,5—2 cm hatten. Aus ihrer Streckungszone wurden Zylinder (4,5 mm) herausgeschnitten, deren Längenänderungen an Kleinbildaufnahmen im Maßstab 1:1 unter dem Mikroskop gemessen wurden, wobei eine Okulareinheit 16,4 μ betrug (Näheres s. POHL 1953 b).

Versuche an Koleoptilzylindern aus nicht-dekapitierten Koleoptilen, die noch mit nativem Wuchsstoff versorgt bleiben sollten, verlangten eine möglichst kurze Zeit für ihre Präparation bis zur ersten Aufnahme. Es wurde daher für ihr Herausschneiden eine besondere Maschine[1] konstruiert, die in Abb. 1 dargestellt ist. Ein schnellaufender Kurzschlußmotor treibt über einen Konus 2 runde Stahlscheiben an, deren Ränder scharf geschliffen sind. Durch einen besonderen Halter werden die Koleoptilen diesen beiden rotierenden Messern von oben zugeführt und dabei ein Zylinder mit abgeschrägten Enden herausgeschnitten. Neben einem schnellen Arbeiten gewährleistete diese Konstruktion ein weitgehendes Einhalten der Zylinderlänge. Bei 48 Koleoptilzylindern betrug die Vorbereitungszeit bis zur 1. Aufnahme einschließlich der Infiltration der Versuchslösung im Vakuum nicht mehr als 15 min.

Als Osmotikum wurde Mannit (Merck) verwandt, das in abgekochtem Leitungswasser gelöst wurde, als Wuchsstoff β-Indolylessigsäure (Merck).

C. Die Versuche und ihre Ergebnisse.

1. Die Streckung der Koleoptilzylinder in Wasser und 0,15 mol. Mannitlösung in Abhängigkeit von der Dekapitationszeit der Koleoptilen. Für die

[1] Ich danke dem Feinmechanikermeister Herrn Gerhard Hild bestens für die Konstruktion des Apparates.

Analyse der Wuchsstoffreaktion auf die Saugkraft erwächst bei Versorgung wuchsstofffreier Koleoptilzylinder mit dem Wirkstoff durch die Versuchslösung die Schwierigkeit, daß die Wuchsstoffreaktion auf die Wasserpermeabilität die auf die Saugkraft überlagert und schwerlich abzutrennen ist. Es wurde daher folgender Weg eingeschlagen: Nach der Dekapitation und dem Herausschneiden der Zylinder müßte zuerst die Permeabilitätsreaktion zum Versiegen kommen und hinterher erst die Saugkraftreaktion, wenn wir von dem Gedanken ausgehen, daß beim normalen Wachstum der Wuchsstoff von der Koleoptilspitze zur

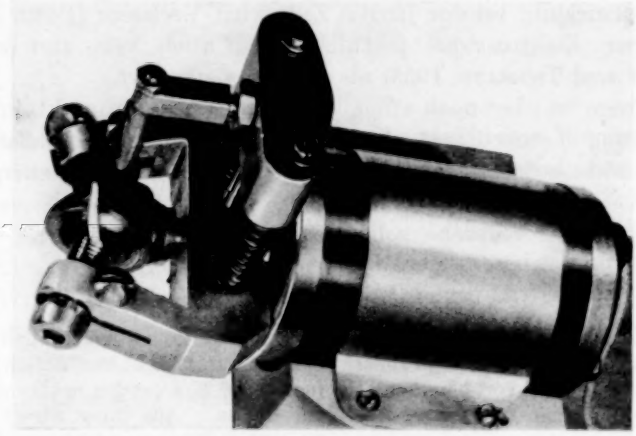


Abb. 1. Apparatur zum Herausschneiden gleich langer Zylinder aus der Streckungszone der Koleoptilen.

Streckungszone über die Plasmagrenzflächen basalwärts transportiert wird und von dort erst in das Plasma einwandert, wobei er auf den Plasmagrenzflächen die Wasserpermeabilität, im inneren Plasma aber die Saugkraft ändert. Durch eine schnellere Abnahme der Permeabilitätsreaktion wäre demnach eine Möglichkeit gegeben, beide Wuchsstoffreaktionen voneinander zu trennen.

Es wurden daher Koleoptilzylinder aus nicht dekapitierten Koleoptilen und in Abständen von jeweils $^1/_2$ bis zu $2^1/_2$ Std nach der Dekapitation aus der Streckungszone der Koleoptilen geschnitten und ihre Verlängerung während eines 2stündigen Aufenthaltes in Wasser bzw. 0,15 mol. Mannitlösung gemessen.

Das Ergebnis des Versuchs gibt Abb. 2 wieder. In der 0,15 mol. Mannitlösung nimmt die Streckung der Zylinder mit Zunahme der Dekapitationszeit bis zu 2 Std ab, steigt nach $2^1/_2$ Std aber wieder auf den Wert der Zylinder aus nichtdekapitierten Koleoptilen an. Die Differenzen zwischen dem Wert der nichtdekapitierten Koleoptilen bzw. dem nach Regeneration der physiologischen Spitze und den Werten

nach 1, $1^1/_2$ und 2 Std Dekapitationszeit sind eindeutig gesichert. Die Saugkraft der Koleoptilzylinder sinkt also nach der Dekapitation ab und steigt, zwar etwas verzögert, nach Regeneration der Spitze wieder an.

Bei Einlegen der Koleoptilzylinder in Wasser kann nun überraschenderweise diese Saugkrafterhöhung nicht beobachtet werden. Zwar liegen auch hier der Anfangs- und Endwert der Kurve, d. h. die Streckung der Zylinder aus nichtdekapitierten Koleoptilen und die aus solchen mit regenerierter Spitze etwas höher als die Zwischenwerte, doch sind die

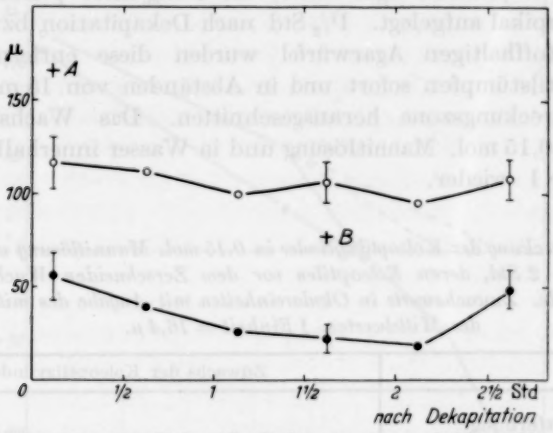


Abb. 2. Längenzunahme von Koleoptilzylindern in 0,15 mol. Mannitlösung (●—●) und Wasser (○—○) in Abhängigkeit von der Dekapitationszeit. *n* für die Werte mit Angabe des mittleren Fehlers = 48, für die übrigen Werte = 24.

Differenzen keineswegs gesichert, wie aus den Angaben der 3fachen mittleren Fehler zu ersehen ist.

An anderer Stelle (Pohl 1953 b) konnte gezeigt werden, daß die Streckung der Koleoptilzylinder in den ersten 3 Std nach Einlegen in abgestufte Mannitlösungen proportional der Saugkraftdifferenz erfolgt. Danach wäre zu erwarten, daß die Zylinder aus nichtdekapitierten Koleoptilen den Wert A bzw. den Wert B erreichten, wenn wir der Errechnung des Wertes A die tatsächlich erfolgte Streckung bei $1^1/_2$-stündiger Dekapitationszeit bzw. im Fall B die Streckung der Zylinder aus nichtdekapitierten Koleoptilen in Wasser zugrunde legen würden unter Berücksichtigung der Streckung in 0,15 mol. Mannitlösung. Beide Werte liegen mit Sicherheit außerhalb der gefundenen Werte. Dieser Befund bestärkt unsere Bedenken, daß die Wasseraufnahme in 0,15 mol. Mannitlösung in Abhängigkeit von der Dekapitationszeit durch eine Saugkraftänderung bedingt wird, die durch eine Änderung des Wanddruckes hervorgerufen wurde.

2. Die Abnahme der Streckung in 0,15 mol. Mannitlösung in Abhängigkeit von der Dekapitationszeit, bedingt durch den Wuchsstoffgehalt

der Koleoptilzylinder. Wenn auch die Abnahme der Zuwachswerte in 0,15 mol. Mannitlösung nach der Dekapitation der Koleoptilen und die Wiederaufnahme einer stärkeren Streckung nach Regeneration der physiologischen Spitze wahrscheinlich auf die Abnahme bzw. Wiederzunahme des nativen Wuchsstoffgehaltes zurückzuführen ist, so schien es uns doch für einen exakten Beweis erforderlich zu sein, die gleichen Versuche bei künstlicher Erhaltung des Wuchsstoffspiegels anzusetzen. Zu diesem Zweck wurden den dekapitierten Koleoptilen unmittelbar nach der Dekapitation Agarwürfel, die 1 mg/Liter β-Indolessigsäure enthielten, apikal aufgelegt. $1^1/_2$ Std nach Dekapitation bzw. Auflegen der wuchsstoffhaltigen Agarwürfel wurden diese entfernt und aus den Koleoptilstümpfen sofort und in Abständen von 15 min Zylinder aus der Streckungszone herausgeschnitten. Das Wachstum dieser Zylinder in 0,15 mol. Mannitlösung und in Wasser innerhalb von 2 Std gibt Tabelle 1 wieder.

Tabelle 1. *Streckung der Koleoptilzylinder in 0.15 mol. Mannitlösung und in Wasser innerhalb von 2 Std, deren Koleoptilen vor dem Zerschneiden Wuchsstoff apikal zugeführt wurde. Zuwachswerte in Okulareinheiten mit Angabe des mittleren Fehlers des Mittelwertes. 1 Einheit = 16,4 μ.*

	Zuwachs der Koleoptilzylinder			
Zeit nach Entfernung des Wuchsstoff Agars . .	0 min	15 min	30 min	45 min
Anzahl der Zylinder	20	10	10	12
Zuwachs in 0,15 mol. Mannitlösung	$3{,}9 \pm 0{,}29$	$2{,}9 \pm 0{,}4$	$1{,}6 \pm 0{,}34$	$1{,}2 \pm 0{,}22$
Zuwachs in Wasser	$8{,}7 \pm 0{,}36$	$8{,}2 \pm 0{,}64$	$8{,}3 \pm 0{,}64$	$8{,}6 \pm 0{,}49$

$1^1/_2$ Std nach der Dekapitation bleibt demnach, wenn dem Koleoptilstumpf künstlich Wuchsstoff zugeführt wird, das Wachstum in der 0,15 mol. Mannitlösung erhalten und sinkt ab mit der Zeit nach der Entfernung des wuchsstoffhaltigen Agars. Nach 45 min, hinzukommen noch 15 min für die Präparation der Zylinder bis zur ersten Messung, also genauer nach 60 min wird der Zuwachswert erreicht, der auch nach $1^1/_2$ Std Dekapitationszeit ohne künstliche Wuchsstoffzufuhr gegeben ist. Wir können also mit Sicherheit annehmen, daß die im vorhergehenden Abschnitt beschriebene Abnahme der Streckung in 0,15 mol. Mannitlösung mit der Abnahme des nativen Wuchsstoffgehaltes korreliert ist und von dieser verursacht wurde.

Die Längenzunahme in Wasser zeigt auch bei künstlicher Wuchsstoffzuführung keine Abhängigkeit vom Wuchsstoffgehalt der Zylinder. Die Differenzen zwischen den Zuwachswerten bei Abnahme des Wuchsstoffgehaltes sind sehr gering und nicht statistisch gesichert.

3. *Saugkraftmessungen an Koleoptilzylindern aus nichtdekapitierten Koleoptilen und solchen mit $1^1/_2$stündiger Dekapitationszeit.* Da, wie bereits gesagt (Pohl 1953 b), die Streckung der Koleoptilzylinder in den ersten 3 Std nach Einlegen in die Versuchslösungen proportional der Saugkraftdifferenz erfolgt, kann eine Saugkrafterhöhung, die der Wuchsstoff etwa durch Herabsetzung des Wanddruckes im Falle der nichtdekapitierten Koleoptilen bewirkt, graphisch ermittelt werden, wie

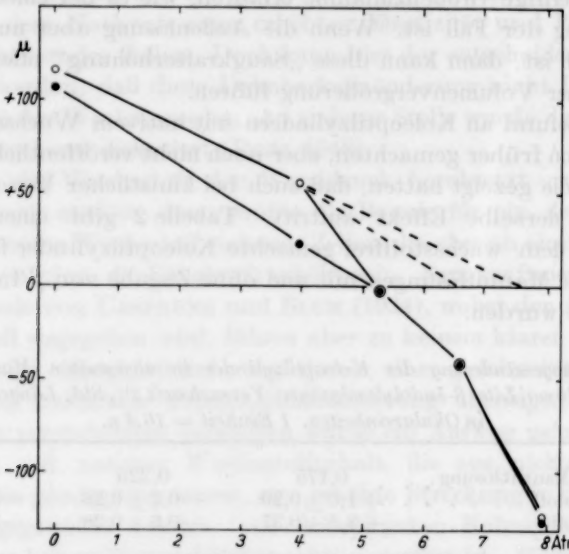


Abb. 3. Längenänderung von Zylindern aus nichtdekapitierten (○—○) und $1^1/_2$ Std dekapitierten Koleoptilen (●—●) in Abhängigkeit von der Saugkraft der Außenlösungen.

es in Abb. 3 durchgeführt wurde. Dabei sind auf der Abszisse die Saugkraft der Außenlösungen in Atmosphären und auf der Ordinate die jeweilige Längenänderung innerhalb von 2 Std in Mikron abgetragen.

Bei Annahme einer geringeren Wasserpermeabilität der wuchsstoffreichen Koleoptilzylinder gegenüber den wuchsstoffarmen müßte deren Saugkraft, um die verstärkte Streckung in der 0,15 mol. Lösung zu erklären, um 2,4 Atm. erhöht sein, bei Annahme einer gleichen Wasserpermeabilität um 1,4 Atm. Der Wanddruck von Koleoptilzylindern aus Koleoptilen mit $1^1/_2$ Std Dekapitationszeit beträgt ungefähr 3 Atm., da Zylinder in Lösungen von 3,5—4 mol. Mannit entspannt werden. Demnach müßte der Wanddruck in den Koleoptilen, die nicht dekapitiert wurden, mindestens um 50% herabgesetzt sein. Einer derartigen Wanddruckverringerung müßte aber auch eine erhöhte Wasseraufnahme bzw. Streckung der Koleoptilzlyinder in Wasser entsprechen. Dies ist aber, wie wir bereits im vorhergehenden Abschnitt zeigen konnten,

nicht der Fall. Werden weiterhin Zylinder aus wuchsstoffreichen und wuchsstoffarmen Koleoptilen in hypertonische Mannitlösungen gelegt, so zeigen beide die gleiche Längenabnahme, wie ebenfalls aus der Abb. 3 zu ersehen ist. Eine höhere Saugkraft der wuchsstoffhaltigen Koleoptilen liegt hier also nicht vor. Vielmehr zeigt es sich, daß nur dann wuchsstoffreiche Koleoptilzylinder eine stärkere Streckung bzw. „Saugkraft" aufweisen, wenn auch die Zylinder ohne Wuchsstoff eine gewisse, wenn auch sehr geringe Größenzunahme erfahren, wie es bei einer 0,15 mol. Mannitlösung der Fall ist. Wenn die Außenlösung aber nur schwach hypertonisch ist, dann kann diese „Saugkrafterhöhung" offenbar nicht mehr zu einer Volumenvergrößerung führen.

Dieser Befund an Koleoptilzylindern mit nativem Wuchsstoff deckt sich mit schon früher gemachten, aber noch nicht veröffentlichten Beobachtungen, die gezeigt hatten, daß auch bei künstlicher Versorgung mit Wuchsstoff derselbe Effekt auftritt. Tabelle 2 gibt einen Versuch wieder, bei dem wuchsstofffrei gemachte Koleoptilzylinder für $2^1/_2$ Std in abgestufte Mannitlösungen mit und ohne Zugabe von β-Indolylessigsäure gelegt wurden.

Tabelle 2. *Längenänderung der Koleoptilzylinder in abgestuften Mannitlösungen ohne und mit 10 mg/Liter β-Indolylessigsäure. Versuchszeit $2^1/_2$ Std, Längenänderungen in Okulareinheiten. 1 Einheit = 16,4 μ.*

Molarität der Mannitlösung.	0,175	0,225	0,275
Ohne Wuchsstoff	$+1{,}0 \pm 0{,}29$	$-0{,}2 \pm 0{,}28$	$-3{,}0 \pm 0{,}45$
Mit Wuchsstoff	$+3{,}5 \pm 0{,}37$	$-0{,}6 \pm 0{,}28$	$-3{,}5 \pm 0{,}33$

In der 0,175 mol. Mannitlösung, die schwach hypotonisch ist, steigert der Wuchsstoff die Streckung in $2^1/_2$ Std um das 3,5fache. Dagegen zeigt er in der 0,225 mol. und in der eindeutig hypertonen 0,275 mol. Lösung keinen Effekt. Eine Aussage darüber zu machen, ob ein Wuchsstoffeffekt auch bei Isotonie zur Auswirkung kommt, würde eine größere Meßgenauigkeit erfordern. Mit der vorliegenden Methode kann die 0,225 mol. Lösung, wie aus dem angegebenen mittleren Fehler des Mittelwertes hervorgeht, sowohl schwach hypertonisch als auch isotonisch sein. Es hat aber den Anschein, als wenn Isotonie allein nicht ausreicht, um die Wuchsstoffwirkung in einer Zellstreckung sichtbar werden zu lassen.

D. Diskussion der Ergebnisse.

Die Erhöhung der Wasserpermeabilität durch Wuchsstoff, welche an verschiedenen Objekten beobachtet und nachgewiesen wurde (Pohl 1939, 1948, 1953 b; v. Guttenberg und Mitarbeiter 1947, 1951, 1952; Brauner und Arslan 1951) kann nur dann zu einer Zellstreckung

führen, wenn neben einer Saugkraft eine hohe Plastizität der Zellwand gegeben ist. Diese Bedingung erfüllen die Zellen aus der Streckungszone der *Avena*-Koleoptile, obwohl der Wanddruck wuchsstofffreier und nicht wachsender Zellen 3—3,5 Atm. beträgt. Die hohe plastische Dehnbarkeit ist einerseits der Schlüssel für eine Erklärungsmöglichkeit unserer Versuchsergebnisse. Andererseits ist es verständlich, daß man in der Herabsetzung eben dieses Wanddruckes eine primäre Wirkung des Wuchsstoffes bei der Zellstreckung sah. Diese Ansicht findet eine starke Stütze in dem Nachweis einer erhöhten Elastizität und Plastizität der Wände wachsender Zellen. Doch kann hier der entscheidende Einwand gemacht werden, daß diese Dehnbarkeitsänderung nicht Ursache, sondern Folge des Wachstums ist. An anderer Stelle wurde dieser Gedanke bereits eingehend diskutiert (Pohl 1948).

Wenn der Wuchsstoff den Wanddruck herabsetzt und damit die Zellstreckung auslöst, dann müßte als Beweis für ein derartiges Eingreifen in unter Wuchsstoff stehende Zellen, die aber an einem Wachstum gehindert werden, die Saugkraft erhöht sein. Saugkraftmessungen nach der Methode von Ursprung und Blum (1924), wobei den Außenmedien Wuchsstoff zugegeben wird, führen aber zu keinem klaren Ergebnis, da eine etwaige Saugkraftänderung durch eine gleichzeitig durch den Wuchsstoff induzierte Permeabilitätsänderung überlagert wird.

In den vorstehenden Versuchen wurde ein Ausweg gefunden und an Zylindern mit nativem Wuchsstoffgehalt, die aus nichtdekapitierten Koleoptilen geschnitten waren, eine erhöhte Streckung in hypotonischer Lösung gegenüber solchen aus dekapitierten Koleoptilen gemessen, welche von keiner Permeabilitätsreaktion gestört ist. Wenn der Wuchsstoff von der Spitze der Koleoptile zur Basis über die Plasmagrenzflächen wandert, so muß er auf Grund dieses Befundes entweder nach dem Herausschneiden der Zylinder in kurzer Zeit, wenn sein Nachschub unterbunden ist, in das Binnenplasma abwandern, oder aber die durch Wuchsstoff bedingte Permeabilitätserhöhung wird durch den Wundreiz aufgehoben.

Die Streckung der Zylinder in schwach hypotoner Mannitlösung nimmt in Korrelation mit der Zeit nach der Dekapitation ab und steigt $2^1/_2$ Std nach ihr wieder an. Dieser erneute Anstieg kann mit der Regeneration der physiologischen Spitze in Beziehung gesetzt werden, denn bei Auflegen von wuchsstoffhaltigem Agar auf den dekapitierten Stumpf bleibt der Zuwachs der Koleoptilzylinder erhalten und sinkt erst dann ab, wenn der Agar vom Stumpf entfernt wird. Die stärkere Streckung der Zylinder aus nichtdekapitierten Koleoptilen ist demnach ein Wuchsstoffeffekt, von dem man zunächst annehmen muß, daß er eine Saugkrafterhöhung des wachsenden Gewebes bewirkt. Nun kann aber diese höhere Saugkraft nicht gemessen werden, wenn Koleoptilzylinder mit

gleicher Vorbehandlung in Wasser gelegt werden. Vielmehr ist die Streckung derselben in Wasser, abgesehen von kleinen, ungesicherten Differenzen, unabhängig von der Dekapitation. Dieser Befund ist nun unvereinbar mit einer Saugkrafterhöhung auf osmotischer Grundlage, denn die Streckung wuchsstofffreier Koleoptilzylinder erfolgt proportional der Saugkraftdifferenz zwischen Zelle und Außenmedium. Man kann auch nicht annehmen, daß bei nichtdekapitierten Koleoptilen der Wanddruck die Streckung in Wasser innerhalb von 2 Std begrenzt, da einmal sich wuchsstofffreie Koleoptilzylinder über mehrere Stunden gleichmäßig strecken und zum anderen ja gerade wuchsstoffreiche Koleoptilen einen geringeren Wanddruck aufweisen sollen.

Die weiteren Versuche mit hypertonischen Lösungen zeigen nun eindeutig, daß der native wie der synthetische Wuchsstoff keine Saugkrafterhöhung auf osmotischem Wege auslösen. In schwach hypertoner Lösung verhalten sich wuchsstofffreie und wuchsstoffhaltige Zylinder völlig gleich, und die in hypotoner Lösung wirksam werdende „Saugkrafterhöhung" wuchsstoffreichen Gewebes hat hier kein entsprechendes Äquivalent in einer Längenänderung.

Dieses Phänomen findet seine Erklärung, wenn wir annehmen, daß die durch Wuchsstoff induzierte Wasseraufnahme nicht durch eine Saugkraftänderung auf Grund einer Wanddruckerniedrigung oder Erhöhung des osmotischen Wertes des Zellsaftes zustande kommt, sondern durch einen nichtosmotischen Transport von Wasser in die Vacuole bedingt ist. Bogen (1953) hat an plasmolysierten Zellen eine solche Wasseraufnahme nachgewiesen, die aber nicht durch β-Indolylessigsäure gesteigert werden konnte und KCN-unempfindlich ist. Die in vorliegenden Versuchen nachgewiesene wuchsstoffinduzierte oder auch nur gesteigerte nichtosmotische Wasseraufnahme ist dagegen KCN-empfindlich (Hackett und Thimann 1952). Andererseits besteht kein Unterschied zwischen beiden Reaktionen bezüglich ihrer Empfindlichkeit auf Dinitrophenol. Es besteht aber kein zwingender Grund, sie als verschieden zu betrachten, da in der jungen, sich streckenden Zelle eine Steigerung dieser Wasseraufnahme durch β-Indolylessigsäure unter Einbeziehung von Atmungsenergie denkbar ist, zu der die erwachsene Zelle nicht mehr die Fähigkeit besitzt.

Für den Mechanismus dieser Wasseraufnahme hat Bogen eine Theorie Goldacres (1952) übernommen, die mit Hilfe von Eiweißen als „carrier" einen Transport von Wasser in die Vacuole vorsieht. Bei Übernahme dieser Theorie zur Erklärung unserer Versuchsergebnisse ergibt sich folgendes Bild: Durch die nichtosmotische Wasseraufnahme wird eine Kraft gestellt, die Wasser gewissermaßen in die Vacuole pumpt. Doch ist für die Menge des Wassers, die in der Zeiteinheit transportiert wird, nicht allein diese Kraft entscheidend, sondern viel-

mehr die Kapazität des zur Verfügung stehenden Transportmittels, so daß im Gegensatz zur osmotischen Saugkraft die auf nichtosmotischem Wege aufgenommene Wassermenge nicht streng mit der Saugkraftdifferenz korreliert ist. Es ist danach nicht verwunderlich, wenn bei Einlegen der Zylinder in Wasser wuchsstoffreiches Gewebe gegenüber wuchsstoffarmem keinen ihrer höheren Streckung in 0,15 mol. Mannitlösung entsprechenden Zuwachs aufweisen, zumal bei dem starken Einströmen von Wasser eine Störung der binnenplasmatischen Reaktionen erwartet werden kann, die auch die nichtosmotische Wasseraufnahme beeinflussen dürfte. In hypertonischer Lösung wird aber die in der Zeiteinheit in die Vacuole transportierte Wassermenge unmittelbar durch das Außenmedium abgesogen bzw. durch den Wanddruck ausgepreßt, so daß keine Volumenveränderung gegenüber wuchsstoffarmen Koleoptilzylindern eintritt.

Der stärkere Zuwachs wuchsstoffhaltiger Zylinder in hypotonischer Lösung setzt aber andererseits voraus, daß die Zellwände bis zur Grenze ihrer elastischen Dehnbarkeit im nichtwachsenden Zustand gestreckt sind und bei einer geringen weiteren Dehnung bereits plastisch überdehnt werden. Dieser Grenzwert wird offensichtlich bereits durch den osmotischen Wert der Vacuolenflüssigkeit erreicht. Zur Überwindung des erwiesenen Wanddruckes von 3—3,5 Atm. ist nicht allein die Kraft, welche die nichtosmotische Wasseraufnahme stellt, erforderlich, sondern diese und die osmotische Saugkraft der Vacuole, wobei erstere im Verhältnis zur letzteren recht klein sein kann. Die wuchsstoffinduzierte, nichtosmotische Wasseraufnahme stellt also keine Saugkrafterhöhung im klassischen Sinne dar, zumal sie nicht in der Lage ist, aufgenommenes Wasser in der Zelle zu halten, wie die Versuche in schwach hypertonem Außenmedium zeigten. Wenn aber eine solche Wasseraufnahme in einer jungen, streckungsfähigen Zelle erfolgt, die eine plastisch dehnbare Wand besitzt, so kann sie zu einer Volumenvergrößerung der Zelle führen.

Die vorliegenden Versuche sprechen somit nicht für ein Wachstum, ausgelöst durch eine Saugkrafterhöhung infolge einer wuchsstoffbedingten Wanddruckerniedrigung, sondern lassen sich vielmehr als Folge einer nichtosmotischen Wasseraufnahme interpretieren, die von einer Permeabilitätserniedrigung für Wasser überlagert wird.

Zusammenfassung.

1. Koleoptilzylinder aus der Streckungszone nichtdekapitierter und dekapitierter Koleoptilen strecken sich in 0,15 mol. Mannitlösung in Abhängigkeit von der Dekapitationszeit. $1^1/_2$—2 Std nach Dekapitation wird der geringste Zuwachs erreicht, $2^1/_2$ Std nach Dekapitation wieder der Wert der Zylinder aus nichtdekapitierten Koleoptilen. Die Zuwachswerte in Wasser differieren dagegen nicht.

2. Bei Auflegen von wuchsstoffhaltigem Agar unmittelbar nach der Dekapitation bleibt der erhöhte Zuwachs in 0,15 mol. Mannitlösung erhalten; er sinkt erst nach Entfernen des Agars ab. Der stärkere Zuwachs der Zylinder aus nichtdekapitierten gegenüber dekapitierten Koleoptilen ist demnach ein Wuchsstoffeffekt.

3. Die Saugkraft der Zylinder aus nichtdekapitierten Koleoptilen ist gegenüber solchen aus dekapitierten nicht erhöht. Ihre größere Streckung beruht daher nicht auf einer Wanddruckverringerung, sondern wird als Folge einer wuchsstoffinduzierten, nichtosmotischen Wasseraufnahme interpretiert.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, für die ich bestens danke. Ebenso danke ich Fräulein Melanie Müller für die tatkräftige Hilfe bei den Versuchen.

Literatur.

Bogen, H. J.: Planta (Berl.) **42**, 140 (1953). — Bogen, H. J., u. H. Prell: Planta (Berl.) **41**, 459 (1953). — Brauner, L., u. N. Arslan: Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul, Ser. B **16**, 257 (1951). — Goldacre, R. J.: Internat. Rev. Cytol. **1**, 135 (1952). — Guttenberg, H. v., u. A. Beythien: Planta (Berl.) **40**, 36 (1951). — Guttenberg, H. v., u. L. Kröpelin: Planta (Berl.) **35**, 257 (1947). — Guttenberg, H. v., u. G. Meinl: Planta (Berl.) **40**, 431 (1952). — Meinl, G., u. H. v. Guttenberg: Planta (Berl.) **41**, 167 (1952). — Pohl, R.: Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, 22 (1939). — Planta (Berl.) **36**, 230 (1948). — Naturwiss. **40**, 110 (1953). — Z. Bot. **41**, 343 (1953); **42**, 63 (1954). — Ursprung, A., u. G. Blum: Jb. Bot. **63**, 1 (1924).

Doz. Dr. R. Pohl, Freiburg i. Br., Schänzlestraße 9—11.

Planta, Bd. 44, S. 147—190 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN VON PLASMODESMEN IN DEN EPIDERMISAUSSENWÄNDEN*.

Von

PETER LAMBERTZ.

Mit 28 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. April 1954.)

Einleitung.

Das allgemeine Vorkommen von Plasmodesmen, d. h. von feinsten plasmatischen fadenartigen Gebilden, die durch die Zellwände hindurch die cellulären Bausteine eines vielzelligen Organismus zu einer plasmatischen Einheit verbinden, gilt heute als gesicherter Besitz der botanischen Wissenschaft. Die Überzeugung, daß man aus physiologischen Gründen derartige Strukturen „fordern müßte, wenn sie nicht schon entdeckt worden wären", ist trotz mancher auch heute noch bestehender Zweifel wohl der Hauptgrund für die allseitige Anerkennung.

Demgegenüber ist die Frage, ob derartige Strukturen auch in den Epidermisaußenwänden vorkommen, zwar aus ähnlichen physiologischen Erwägungen heraus schon sehr frühzeitig aufgeworfen, bis in die neueste Zeit hinein aber negativ beantwortet worden (MÜHLDORF 1937). Und doch muß die Frage, wie der Protoplast dort, wo er unmittelbar an die Außenwelt grenzt und mit ihr in vielfache Wechselbeziehung tritt, morphologisch beschaffen ist, sowohl für die Stoffwechsel - wie für die Reizphysiologie von erhöhtem Interesse sein. Dem vor allem aus Plasmolysestudien entnommenen Bilde, wonach der Protoplast als glatte tapetenartige Schicht einer verdickten Außenmembran lediglich anliegt, stehen andere Erfahrungen gegenüber, die eine sehr viel engere Verzahnung und Durchdringung eben dieser Membran durch das Plasma vermuten lassen.

Im Jahre 1939 haben SCHUMACHER und HALBSGUTH anläßlich ihrer Studien über die Anschlußverhältnisse höherer Parasiten an die Leitbahnen der Wirtspflanzen erstmalig bei den hyphenartigen Zellen von *Cuscuta odorata* im Gewebe der Wirtspflanzen zahllose feinste plasmatische Fäden frei durch die Zellwände zur Oberfläche ziehen sehen. C. W. BENNET (1944) hat diese Beobachtungen später bestätigt. 1942 hat SCHUMACHER in einer weiteren Arbeit diese ersten Befunde für die Epidermisaußenwände einer ganzen Anzahl phanerogamer Pflanzen

* Auszug aus einer Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn.

erweitern können. Die Befunde waren so neuartig und überraschend, daß SCHUMACHER in voller Erkenntnis der Konsequenzen, die sich daraus für vielfältige physiologische Probleme, wie die Stoffaufnahme, Stoffabgabe, Transpiration, Reizperzeption usw. ergeben mußten, noch immer zögerte, die beobachteten Strukturen mit Sicherheit für plasmatisch zu erklären.

Auf seine Anregung hin habe ich es daher im Winter 1949 unternommen, die Fragen der darstellenden Methodik, des Vorkommens und der Verbreitung solcher plasmodesmenartiger Strukturen in den Epidermisaußenwänden auf breiterer Grundlage aufzugreifen.

Die Arbeit wurde in den Jahren 1949—1953 im Botanischen Institut der Universität Bonn durchgeführt. Ich möchte Herrn Prof. Dr. W. SCHUMACHER nicht nur für die Anregung zu dieser Arbeit, sondern auch für seine stete hilfsbereite und verständnisvolle Unterstützung von Herzen danken.

I. Untersuchungen zur Methodik der Darstellung von Außenwandplasmodesmen.

1. Fixierungstechnik.

Für die Sichtbarmachung von Plasmodesmen in der Außenwand pflanzlicher Epidermen ist, wie schon SCHUMACHER betonte, die Art des Fixierungsmittels von ausschlaggebender Bedeutung. Sie ist wohl auch die Ursache dafür, daß diese Strukturen so lange völlig übersehen wurden. Die „Launenhaftigkeit" der Darstellung, die oft aus ganz unerfindlichen Gründen zu unkontrollierbarem Versagen führt und auch mir anfangs sehr zu schaffen machte, ließ es daher angebracht erscheinen, zunächst einmal das von SCHUMACHER und HALBSGUTH und SCHUMACHER verwendete und als allein wirksam beschriebene $HgCl_2$-haltige Gilson-Gemisch einer genaueren Untersuchung zu unterziehen, um zu erfahren, in welcher Weise qualitative oder quantitative Änderungen in der Zusammensetzung auf die Darstellbarkeit von Einfluß sein möchten. Auch durfte erwartet werden, daß aus solchen Studien nähere Aufschlüsse über die Natur der beobachteten Wandstrukturen zu gewinnen seien. Im folgenden mag daher zunächst aus den sehr umfangreichen und zeitraubenden Untersuchungen einiges mitgeteilt werden, da diese technischen Fragen die Grundlage für alle weiteren Erörterungen darstellen[1].

Die Versuche wurden stets so angestellt, daß unmittelbar benachbarte Organteile des zu untersuchenden Objektes sowohl mit dem alten Gilson-Gemisch wie mit dem jeweils abgeänderten Fixiergemisch fixiert und der Erfolg beider Verfahren miteinander verglichen wurde. Versuchsobjekte waren dabei meist die Blätter von *Passiflora coerulea*.

[1] Im vollen Umfang können diese Untersuchungen in der Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn eingesehen werden.

a) Prüfung nicht $HgCl_2$-haltiger Fixiergemische. Alle im folgenden genannten und großenteils dem bekannten Buch von ROMEIS: Mikroskopische Technik, 15. Auflage, München 1948 entnommenen nicht $HgCl_2$-haltigen Fixiergemische erwiesen sich als völlig unwirksam und ungeeignet, Plasmodesmen in der Epidermisaußenwand darzustellen:

Alkohol-Formolgemische (Romeis 228), Alkohol-Eisessiggemische (Romeis 225), Pikrinsäure (Romeis 305), Sulfosalicylsäure (Romeis 342), Trichloressigsäure (Romeis 343), schwermetallhaltige Gemische ohne Hg: Silbermethoden nach CAJAL (Romeis 1797), nach BIELSCHOWSKY (Romeis 1909), nach SCHULTZE (Romeis 1808), nach LAWRENTJEW (Romeis 1915), nach GÖMÖRI (Romeis 1533), nach PFEIFFER-WELLHEIM, Goldimprägnationsmethode nach CAJAL (Romeis 1849), Kupfergemisch nach ZIRKLE, Platinchloridgemisch nach LAWDOWSKY, Osmiumsäuregemische (Romeis 289—298), Bleiacetat-Formolgemisch nach LISON (Romeis 2073), Urannitratgemisch nach CAJAL (Romeis 1856) und Phosphorwolframsäure (Romeis 299).

b) Untersuchung des Fixiergemisches nach GILSON. Wirksam erwies sich immer nur das $HgCl_2$-haltige Gilson-Gemisch, bei dem nun zunächst versucht wurde, durch Variation der einzelnen, das Gemisch zusammensetzenden Komponenten die Sicherheit und Prägnanz der Darstellung zu erhöhen.

α) Quantitative Änderungen der Komponenten. Das von SCHUMACHER und HALBSGUTH sowie von SCHUMACHER verwendete Gilson-Gemisch hatte folgende Zusammensetzung: 50 Teile Alkohol 40%, 9 Teile Eisessig 96%; 1 Teil Salpetersäure 65%; Sublimat bis zur Sättigung.

An Blättern von *Passiflora coerulea*, *Passiflora incarnata* und *Primula elatior* wurden folgende Änderungen erprobt:

Erhöhung der *Alkoholkonzentration* führte zu einer starken Entquellung der Außenwände. Es zeigten sich zwar noch deutlich Außenwandplasmodesmen, aber die Feinheit der Strukturen und die Klarheit des mikroskopischen Bildes verschlechterte sich erheblich.

Erhöht man die Konzentration der *konzentrierten Salpetersäure* von 1 cm^3 auf 4 cm^3 je 40 cm^3 Fixierungsflüssigkeit, so maceriert das Objekt derartig, daß die Feststellung der Außenwandplasmodesmen außerordentlich erschwert ist. Läßt man die Salpetersäure ganz weg, so werden die Plasmodesmen grob-keilförmig. Die gesamten Zellstrukturen einschließlich der Wände färben sich an und das mikroskopische Bild wird verschmiert. Der Zusatz von HNO_3 ist also unbedingt erforderlich, sollte aber 1—2 cm^3 je 40 cm^3 Fixierflüssigkeit nicht überschreiten. Neben den oben genannten Objekten bestätigten auch die Ergebnisse an den Blütenblättern von *Iris germanica*, *Yucca filamentosa* und *Cymbidium Lowianum* diese Erfahrungen.

Eine Erhöhung oder Erniedrigung der *Essigsäurekonzentration* hat keinen Einfluß auf die Darstellbarkeit der Außenwandplasmodesmen. Ist Salpetersäure im Gemisch vorhanden, dann kann die Essigsäure ganz

weggelassen werden. Am besten geht man nicht über 4 cm³ einer 96%igen Essigsäure je 40 cm³ Fixierungsflüssigkeit hinaus, da sie sonst die macerierende Wirkung der Salpetersäure verstärkt.

Recht wichtig waren die Erfahrungen mit einer Änderung der *Sublimatkonzentration*. Die übliche Gilson-Lösung ist mit $HgCl_2$ gesättigt. Meine Untersuchungen an *Primula acaulis* und *Passiflora coerulea* ergaben, daß mindestens halbgesättigte $HgCl_2$-Lösungen notwendig sind, um eine Normalzahl an Plasmodesmen zur Darstellung zu bringen. Bereits bei einer nur zu $^1/_4$ gesättigter Lösung sinkt die Zahl der sichtbar werdenden Plasmodesmen von 600—800 je 50 μ^2 auf ungefähr 150—200. Der Zusatz von $^1/_{10}$ gesättigter $HgCl_2$-Lösung zur Fixierungsflüssigkeit läßt keine Wandstrukturen mehr hervortreten.

Die besten Resultate erhielt ich stets mit einer Gilson-Lösung, bei der, um der macerierenden Wirkung der Säuren etwas entgegenzuwirken, die nicht unbedingt erforderliche Essigsäure durch ein Holzessig-Formalingemisch ersetzt wurde. *Das von mir in der vorliegenden Arbeit endgültig benutzte Fixiergemisch hatte daher folgende Zusammensetzung: Alkohol* (30%) 40 cm³, *Holzessig* (rein) 10 cm³; *Formalin* (40%) 5 cm³; *Salpetersäure* (65%) 1 cm³; *$HgCl_2$ bis zur Sättigung* (2—3 g).

β) Qualitative Abänderungen der Gilson-Lösung. Versuche, die mit diesem Fixierungsmittel erreichten Erfolge durch Austausch einzelner Komponenten gegen andersartige Bestandteile oder durch weitere Zusätze noch zu steigern, zeitigten Ergebnisse, die für die Beurteilung der spezifischen Fixierungswirkung der Gilson-Lösung nicht ohne Interesse waren.

Die Anwesenheit von $HgCl_2$ ist, wie gesagt, unbedingt erforderlich. Dabei scheint die Gegenwart von Hg^{++}-Ionen notwendig zu sein, da Zusätze, die eine Bildung von nichtionisierenden Hg-Komplexsalzen bedingen (NaCl, $CaCl_2$, HCl) den Fixierungserfolg restlos zerstören können. Andere Zusätze, wie Pikrinsäure oder Kaliumbichromat, stören, sei es, daß sie die offenbar bei der Fixierung vor sich gehende Reduktion des Hg(II) zu Hg(I) verhindern, sei es, daß sie in anderer Weise die empfindlichen Strukturen in ungünstiger Weise beeinflussen und zur Fixierung unbrauchbar machen. Der Ersatz des $HgCl_2$ durch $Hg(NO_3)_2$ zeitigt, wohl durch Bildung eines schwerlöslichen basischen Salzes, rein negative Ergebnisse, $HgSO_4$ gibt wohl schwach positive, aber wesentlich schlechtere Resultate als $HgCl_2$.

Dagegen brachte der Versuch, die Salpetersäure unseres Gilson-Gemisches durch andere Zusätze zu ersetzen, einige, für die Feinheit der Plasmodesmendarstellung wichtige Ergebnisse. Diese Zusätze, die in Tabelle 1 zusammengestellt wurden, beeinflussen nämlich die *Form*, in der sich die Plasmodesmen darstellen lassen, in auffälliger und charakteristischer Weise.

Tabelle 1. *Einfluß verschiedener Zusätze zum Fixiergemisch nach* GILSON. Vergleich zwischen dem Quellungszustand der Außenwand und der Form der Außenwandplasmodesmen.

Zusätze in g bzw. cm³ je 40 cm³ Fixiergemisch		Zahl der Außenwandplasmodesmen	Form der Außenwandplasmodesmen	Zustand der Außenwand
Chromsäure 10%	6 cm³	±	sehr grob-keilförmig	Objekt gehärtet,
Pikrinsäure konz.	6 cm³	±	sehr grob-keilförmig	Wand
Kaliumpermanganat	1 g	+++	sehr grob-keilförmig	entquollen
Weinsäure	1 g	+++	schmal-keilförmig	„
Salpetersäure konz.	1 cm³	++++	grob-fadenförmig	leicht gequollen
Perchlorsäure 40%	4 cm³	++++	grob-fadenförmig	„ „
Essigsäure konz.	2 cm³	++++	grob-fadenförmig	stärker gequollen
Schwefelsäure konz.	1 cm³	++++	schmal-fadenförmig	„ „
Oxalsäure	2 g	++++	zart-fadenförmig	stark gequollen

Die Reihe der Zusätze beginnt mit Chromsäure. Die wenigen Außenwandplasmodesmen, die nach der Fixierung mit Chromsäurezusatz zu beobachten sind, zeigen eine breite, keilförmige Gestalt. Das gleiche Bild zeigt sich beim Zusatz von Pikrinsäure zum Fixiergemisch. Setzt man Kaliumpermanganat zur Fixierungsflüssigkeit hinzu, so ist eine Steigerung der Zahl der Außenwandplasmodesmen festzustellen. Die Form der Außenwandplasmodesmen in den Intercostalfeldern bleibt noch grob-keilförmig, dagegen besitzen sie in den Epidermiszellen über der Nervatur bereits eine schmal-keilförmige bis grob-fadenförmige Gestalt (Abb. 1).

Zeigte sich beim Zusatz von Kaliumpermanganat bereits ein Übergang von der grob-keilförmigen Gestalt der Außenwandplasmodesmen zu einer grob-fadenförmigen, so lassen sich nach Zusatz von Weinsäure nicht nur in den Epidermiszellen über der Nervatur, sondern auch in denen der Intercostalfelder bereits schmal-keilförmige bzw. grob-fadenförmige Plasmodesmen beobachten (Abb. 2). Gemeinsam ist diesen vier ersten Zusätzen eine kräftige Härtung des Objektes und eine starke Entquellung der Außenwand.

Bei Zusatz von Salpetersäure, Perchlorsäure und Essigsäure werden die Außenwandplasmodesmen nur noch fadenförmig, und zwar werden sie zur Essigsäure hin immer feiner. Auf die Wand wirken diese Säuren, wie die Untersuchungen zeigten, leicht quellend (Abb. 3). Die Form der Außenwandplasmodesmen bei einer Fixierung mit Schwefelsäurezusatz ist schmal-fadenförmig, bei Oxalsäure sogar sehr zart-fadenförmig (Abb. 4). Die Außenwände der Epidermiszellen sind stark gequollen. Bei Oxalsäure macerieren viele Objekte so stark, daß Schnitte unter 40—50 μ nicht mehr möglich sind.

Aus diesen Untersuchungen kann man daher schließen, daß bei einer Entquellung der Außenwand die Form der Außenwandplasmodesmen

grob ist, daß sie aber um so feiner und zarter wird, je größer die durch den Zusatz hervorgerufene Quellung der Wand ist.

Als Gesamtergebnis der Untersuchungen des Fixiergemisches nach GILSON läßt sich daher folgendes feststellen: *Zur sauberen und klaren Darstellung von Außenwandplasmodesmen ist am besten jenes Fixiergemisch geeignet, dessen quantitative Zusammensetzung auf S. 150 bereits angegeben*

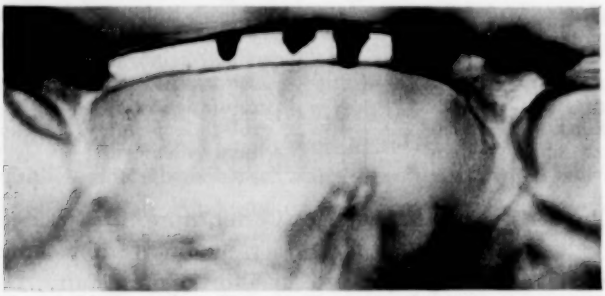


Abb. 1. Epidermiszelle von *Primula pulverulenta*. Grob-keilförmige Gestalt der Außenwandplasmodesmen nach Zusatz von Kaliumpermanganat zur Fixierungsflüssigkeit. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Wasserimmersion 90mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 900mal.

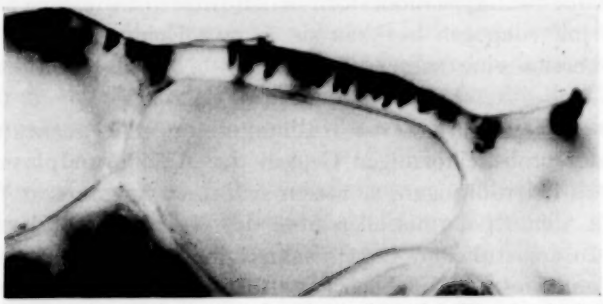


Abb. 2. Epidermiszelle von *Primula pulverulenta*. Schmal-keilförmige Gestalt der Außenwandplasmodesmen nach Zusatz von Weinsäure zum Fixiergemisch. Optische Daten wie bei Abb. 1.

wurde. Wesentlich für den Grad der Feinheit der Außenwandplasmodesmen ist der Zusatz von Säuren. Wenn es die Festigkeit des zu untersuchenden Objektes zuläßt, dann fixiert man, um sehr feine und zahlreiche Außenwandplasmodesmen zu erhalten, am besten mit Oxalsäurezusatz.

c) Die Dauer der Fixierung, die Größe und das Schneiden des Materials. Die Klarheit der Darstellung von Außenwandplasmodesmen ist indessen nicht nur von der quantitativen und qualitativen Zusammensetzung des Fixiergemisches abhängig, sondern auch von der *Fixierungsdauer*. Diese wiederum hängt unter anderem ab von der Größe des zu fixierenden Objektes. Alle Angaben über die Dauer der Fixierung haben somit nur relativen Charakter.

Bei den von mir oft untersuchten Laubblättern von Passifloren, Euphorbien und Primeln konnten bereits nach 10 min Einwirkungszeit Außenwandplasmodesmen festgestellt werden. Aber selbst nach 24stündiger Fixierungsdauer waren die Strukturen noch klar zu erkennen, jedoch macerierten bei dieser langen Dauer viele der untersuchten Pflanzenorgane so stark, daß ein Schneiden auf dem Gefriermikrotom unmöglich wurde. Das *Fixierungsoptimum liegt bei den meisten der untersuchten Objekte bei 10—12 Std.* Man kann das Fixierungsoptimum an folgendem leicht erkennen: Die grünen Blattstücke färben sich zunächst von den Rändern

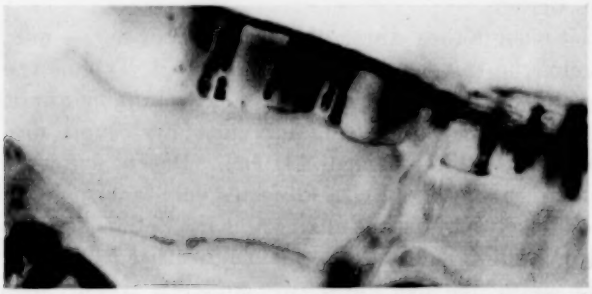


Abb. 3. Epidermiszelle von *Primula pulverulenta*. Grob-fadenförmige Gestalt der Außenwandplasmodesmen nach Zusatz von Salpetersäure zur Fixierungsflüssigkeit. Optische Daten wie bei Abb. 1.

Abb. 4. Epidermiszelle von *Primula pulverulenta*. Zart-fadenförmige Gestalt der Außenwandplasmodesmen nach Zusatz von Oxalsäure zur Fixierungsflüssigkeit. Optische Daten wie bei Abb. 1.

her gelbbraun. Nach einer gewissen Zeit beginnt eine Rückfärbung, wobei das Objekt schließlich eine grünliche Farbe annimmt. Sobald die ganze Blattfläche wieder grün erscheint, ist die Fixierung vollendet. In den von mir untersuchten Objekten war diese Rückfärbung nach etwa 6—12 Std, je nach der Größe des zu fixierenden Materials, abgeschlossen.

Die Größe des Untersuchungsmaterials ist an sich gleichgültig. Ich habe ganze Blätter von Primeln und Passifloren, die 8—10 cm lang waren, gut durchfixieren können. Jedoch sollte man größere Objekte in kleinere Stücke zerschneiden. Am vorteilhaftesten erwies sich eine Stückgröße von 10×10 mm. Da größere Stücke eine längere Fixierungszeit erfordern, besteht nämlich die Gefahr, daß die Objekte unter dem Einfluß des Säurezusatzes (vgl. Tabelle 1) macerieren und aus

diesem Grunde ein nachfolgendes Schneiden der betreffenden Objekte mit dem Gefriermikrotom recht schwer, oft sogar unmöglich wird.

Nach der Fixierung müssen die Objekte gründlich in 20—30 % Alkohol ausgewaschen werden, um überschüssiges Sublimat zu entfernen, da es sonst bei der Färbung zu störenden Farbniederschlägen kommt. Die Spülflüssigkeit soll etwa 2—3mal erneuert werden. Nach 4—6 Std sind die Objekte von allem anhaftenden Sublimat frei und können dann geschnitten werden.

Da in fast allen Fällen durch die Gilson-Fixierung — mit Ausnahme der Fixiergemische mit härtenden Zusätzen (vgl. Tabelle 1) — die Objekte sehr weich werden, schneidet man sie zweckmäßig auf dem *Gefriermikrotom*. Als Einbettungsflüssigkeit zum Einfrieren des Materials nimmt man am besten 5%igen Alkohol. Durch den Alkoholzusatz wird ein zu starkes Hartfrieren des Objektes vermieden; hierbei zerreißen nämlich die kleinen Eiskristalle allzu leicht die Zellen, so daß man keine gleichmäßigen Schnitte, sondern nur Zellbruchstücke erhält. Solche Bruchstücke lassen sich aber nur schwer anfärben, wodurch eine Beurteilung des mikroskopischen Bildes behindert wird.

Die Schnittdicke richtet sich vollkommen nach dem Zustand des fixierten Objektes. Bei Blüten, deren Zellwände sehr leicht quellen, wird man, wenn ein Schneiden überhaupt möglich ist, nicht unter 50—60 μ gehen können. Bei Laubblättern, die einigermaßen widerstandsfähig sind, kann man eine Schnittdicke von 20 μ erreichen. Nach Salpetersäurezusatz habe ich bei Blättern von Primeln, Passifloren und Euphorbien, die ich sehr oft untersuchte, fast stets eine Schnittdicke von 30 μ erzielen können, bei Oxalsäurezusatz allerdings nur eine solche von 45—60 μ.

Vom Einbetten des Materials in Paraffin ist abzuraten, da beim Hindurchführen der Schnitte durch die Alkoholreihe die Außenwand allzu stark entquollen wird. Dadurch wird das mikroskopische Bild unklar und die Beurteilung erschwert.

Hier ist auch eine interessante Beobachtung, die bereits SCHUMACHER (1942, S. 540) machte, zu erwähnen. Versucht man nämlich, Freihandschnitte von lebendem Material *nachträglich* in Gilson zu fixieren, so bleibt die Darstellung der Außenwandplasmodesmen aus, obwohl 10 × 10 mm große Blattstücke, die als Kontrolle *vor* dem Schneiden in Gilson fixiert wurden, diese Gebilde deutlich zeigten.

In der folgenden Tabelle 2 habe ich das Ergebnis von 8 Reihenversuchen zusammengestellt, in denen der Einfluß der Schnittdicke geprüft wurde:

Um die Stücke $^1/_{20}$ mm dick schneiden zu können, wurde das Handmikrotom von Leitz benutzt. Die Größe der übrigen Objekte wurde mit einem plan-konkaven Rasiermesser auf einer Unterlage mit Millimetereinteilung bestimmt. Aus der Tabelle 2 ersieht man, daß bei einer Schnittdicke von $^1/_{20}$ mm bis 1 mm bei nachfolgender Gilson-Fixierung die Darstellung der Außenwandplasmodesmen nicht

mehr zu erreichen ist. Erst von 2 mm an sind diese Strukturen zu beobachten. Vergleicht man nun die Schnittgröße mit der Größe der Epidermiszellen, so ist der Grund für dieses Ergebnis leicht zu ersehen. Die Messungen ergeben für die Epidermiszellen der Blattoberseite von *Primula pulverulenta* folgende Werte: Länge 200—230 μ; Breite 108—120 μ; Höhe 50—72 μ. Die Messungen wurden durchgeführt an dem Mittelstück eines 21 cm langen Blattes von *Primula pulverulenta*. Die angeführten Zahlen bedeuten die kleinsten bzw. größten gefundenen Werte. Es ist selbstverständlich, daß sie nur relative Bedeutung besitzen.

Daß bei einer Schnittdicke von $^1/_{20}$ mm keine Außenwandplasmodesmen sichtbar werden können, hat also offenbar seinen Grund darin, daß hierbei sämtliche Zellen angeschnitten und damit abgetötet wurden. Dadurch muß die Vernichtung der Strukturen selbst oder doch die ihrer normalen Darstellbarkeit erfolgen. Ein Sichtbarwerden der Außenwandplasmodesmen kann daher nur dann erreicht werden, wenn das Material in größeren Stücken lebend fixiert wird. Darum können auch bei Objekten, die durch ein nicht $HgCl_2$-haltiges Fixiergemisch, oder wie hier, durch Schneiden mit dem Messer bereits vor der Sublimatfixierung abgetötet werden, keine Außenwandplasmodesmen mehr zur Darstellung gebracht werden. Erst wenn die Schnittdicke des lebenden Materials mehrere unverletzte Zellreihen umfaßt, werden Außenwandplasmodesmen mit $HgCl_2$ darstellbar.

Tabelle 2. *Vergleich zwischen Objektgröße und Anzahl der Außenwandplasmodesmen bei Freihandschnitten durch Blätter von Primula pulverulenta.*

Objektgröße der fixierten Stücke mm	Anzahl der Außenwandplasmodesmen
$10 \times {}^1/_{20}$	–
10×1	–
10×2	+ + +
10×3	+ + + +
10×4	+ + + +
10×6	+ + + +
10×10	+ + + +

Eine ähnliche schädigende Wirkung wie das Schneiden frischen Materials zeigt auch das rasche Tieffrieren. Geschnitten wurden frische unfixierte Blätter von *Primula pulverulenta* auf dem Leitzschen Gefriermikrotom. Dabei werden, wie die Messung mit einem Weingeistthermometer zeigt, innerhalb von 10—15 sec Temperaturen von —35° bis —40° C erreicht. Die noch vereisten Schnitte von 50—150 μ bzw. ganze eingefrorene Blattstücke von 10×10 mm Größe wurden sofort anschließend in das Gilson-Gemisch eingebracht. Dabei zeigten zwar die Kontrolle zahlreiche, die vorher tiefgefrorenen Schnitte bzw. Blattstücke dagegen keine Außenwandplasmodesmen mehr, was wiederum die große Labilität der Strukturen beweist. Es ist jedoch nicht unwahrscheinlich, daß es bei weniger starker und vor allem langsamerer Tiefkühlung gelingen mag, die Plasmodesmen zu erhalten.

2. *Färbetechnik.*

Entscheidend für das Sichtbarwerden der Außenwandplasmodesmen ist und bleibt also die Fixierung eines genügend großen unverletzten

Stückes mit einem Fixiergemisch, das Sublimat enthält. Beobachtet man nun das mikroskopische Bild eines fixierten, aber noch nicht gefärbten Schnittes vor der Jodbehandlung, dann lassen sich, wie bereits SCHUMACHER (1942, S. 539) angab, in den Außenwänden der Epidermiszellen Gebilde erkennen, in denen man zwar unschwer die Außenwandplasmodesmen zu erkennen vermag, die aber einer genauen Untersuchung schwer zugänglich sind. Diese Gebilde erscheinen nämlich je nach dem Säurezusatz grob-keilförmig oder grob-fadenförmig und erwecken den Eindruck, als hätten sich bei ihnen kleine Kristalle um ein fadenförmiges Zentrum herum niedergeschlagen. Durch diesen kristallartigen Niederschlag wird die äußere Begrenzung der Strukturen ziemlich verwischt. Eine zweite Eigenart dieser Gebilde ist ihre hohe Lichtdurchlässigkeit. Sie erscheinen fast gleichfarbig mit der Wand zu sein, in der sie eingelagert sind, so daß es bei starken Vergrößerungen recht schwierig ist, sie von der umgebenden Wand abzugrenzen bzw. innerhalb der Gebilde selber irgendwelche Strukturen zu erkennen. Oft sind diese Niederschläge auch so kräftig und breit, daß mehrere solche Strukturen ineinander übergehen und dadurch die Abgrenzung voneinander kaum möglich ist. Das Mikrophoto (Abb. 5) soll das Gesagte verdeutlichen.

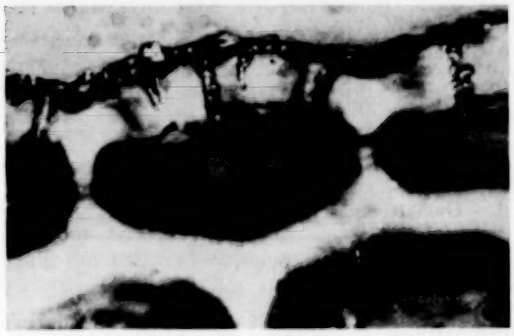


Abb. 5. *Passiflora coerulea*. Epidermis des Blattmedianus. Gestalt der Außenwandplasmodesmen nach der Gilson-Fixierung, aber vor der Behandlung mit Jod-Jodkaliumlösung. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Objektiv 45mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 4mal. Gesamtvergrößerung 600mal.

a) Färbemethode nach A. MEYER. Um ein klares und einwandfreies Bild zu erhalten, müssen daher die fixierten Schnitte noch weiter behandelt werden. Zunächst wandte ich die am häufigsten gebrauchte Methode der Plasmodesmendarstellung, die Pyoktaninmethode nach A. MEYER an, und zwar in der Form, wie sie SCHUMACHER & HALBSGUTH (1939, S. 326) und SCHUMACHER (1942, S. 530) beschrieben haben.

Die in Gilson fixierten Schnitte wurden in 50% Alkohol, dem etwas Jod zugesetzt wurde, gründlich gespült, bis sich keine von einer Jod-Sublimatverbindung herrührenden Niederschläge mehr zeigten. In den meisten Fällen dauerte dieser Vorgang etwa 4 Std. Danach wurde kurz in destilliertem Wasser abgespült und die Schnitte in eine Jod-Jodkaliumlösung gebracht. Diese Lösung wurde folgendermaßen hergestellt: 2 g Jodkalium wurden in 5 cm³ destilliertem Wasser gelöst und 1 g Jod zugesetzt. Nach der Auflösung des Jods wurde diese Jod-Jodkaliumlösung auf 200 cm³ verdünnt. In dieser Lösung verblieben die Schnitte 4 Std, bisweilen

auch 2—3 Tage. Jedoch quellen sie bei längerer Einwirkung so stark, daß eine einwandfreie Beobachtung später sehr erschwert ist. Aus der Jod-Jodkaliumlösung wurden die Schnitte in 14% Schwefelsäure übertragen, die mit Pikrinsäure gesättigt war und einige Jodsplitter enthielt, die ein völliges Auswaschen des Jods aus den Schnitten verhindern sollen. Die Einwirkungsdauer betrug 5—30 min. Anschließend wurden dann die Schnitte in einer schwefelsauren Pyoktaninlösung gefärbt. Diese Farblösung wurde folgendermaßen hergestellt: 1 g Pyoktanin coeruleum nach Prof. STILLING (Merck) wurde in 30 cm^3 Wasser gelöst. Danach wurden 30 cm^3 einer 25% Schwefelsäure hinzugegeben. In dieser Lösung verbleiben die Schnitte 1—3 min, jedoch nicht länger, da sonst starke Farbniederschläge entstehen, die das mikroskopische Bild der Plasmodesmen verwischen können.

Ich habe später die Pyoktaninlösung statt mit 30 cm^3 einer 25% Schwefelsäure mit 100—150 cm^3 einer 12% Schwefelsäure verdünnt und die Schnitte nur 1 min lang in dieser Farblösung gelassen. Die Anfärbung war zwar schwächer, aber das Bild blieb fast immer klar und niederschlagsfrei. Nach der Anfärbung wird in Wasser gut ausgewaschen. Dann werden die Schnitte, in Glycerin eingeschlossen, unter dem Mikroskop beobachtet. Mit Hilfe dieser Pyoktaninmethode nach A. MEYER konnte ich die Außenwandplasmodesmen meist einwandfrei beobachten. Aber die Methode ist außerordentlich zeitraubend und liefert auch nicht immer einwandfreie und klare Bilder. Da ich im Laufe meiner Arbeit aber sehr viele Untersuchungen vornehmen mußte, habe ich daher diese Methode noch weiter vereinfacht.

Diese Vereinfachung der Pyoktaninmethode bestand darin, daß ich nach der Fixierung, dem Auswaschen und Schneiden der Objekte die Schnitte in eine 20%ige Jodkaliumlösung brachte, in der sie etwa 5—10 min verblieben. Unter dem Mikroskop beobachtet man, daß die nach der Fixierung hellen Einlagerungen in der Außenwand dunkel und die körnigen Niederschläge um den zentralen Plasmafaden aufgelöst werden, wie dies schon SCHUMACHER (1942, S. 539) nach der Behandlung der Schnitte mit einer Jod-Jodkaliumlösung angegeben hat. Damit werden die vorher unregelmäßigen Begrenzungslinien der Außenwandplasmodesmen ziemlich geradlinig. Jedoch bleiben die offenbar allein durch die Fixierung hervorgerufenen spezifischen Formen — grobkeilförmige bis zart-fadenförmige — unverändert. Anschließend wird in der vorhin genannten schwefelsauren Pyoktaninlösung 20—30 sec gefärbt, dann gut gewässert und in Glycerin eingebettet. Das mikroskopische Bild ist auf diese Weise stets klar und sauber. Der Farbton ist gegenüber dem Schwarzblau der vorhergehenden Methode hellviolett bis lichtblau. *Alle folgenden Untersuchungen wurden daher mit dieser verkürzten Färbemethode durchgeführt.*

b) Prüfung verschiedener anderer Farbstoffe auf ihre Brauchbarkeit zur Darstellung von Außenwandplasmodesmen ohne vorhergehende Sublimatfixierung. Sehr ausgedehnte Versuche, ohne vorhergehende $HgCl_2$-Fixierung allein durch Färbung zu einer Darstellung der Plasmodesmen zu gelangen, scheiterten durchweg. Weder Fettfarbstoffe, noch Farbreaktionen, die Eiweißstoffe anzeigen (Plasmalreaktion nach

FEULGEN, Xanthoproteinreaktion, MILLONsche Reaktion, Ninhydrin) noch eine ganze Reihe anderer Farbstoffe führten zum Erfolg. (Genauere Angaben in der Dissertation.) Auch Versuche, eine eventuelle Färbung mit Kaliumfluorescein im Fluorescenzmikroskop zu erkennen, blieben ebenso wie seinerzeit bei SCHUMACHER (1936) ohne Erfolg.

Somit muß leider gesagt werden, daß trotz aller Bemühungen die Gilson-Fixierung und die Pyoktaninfärbung bis heute die einzig brauchbaren Methoden sind, um unsere Strukturen in den Epidermisaußenwänden sichtbar zu machen. Im Interesse einer weiteren Bestätigung meiner Befunde wäre es natürlich sehr erwünscht, wenn es gelänge, noch ein zweites Verfahren auf ganz anderer Basis zu finden, das ihren Nachweis gestattete[1].

II. Vorkommen und Verbreitung von Außenwandplasmodesmen.

1. Das Vorkommen in verschiedenen Pflanzenfamilien.

Daß normale Plasmodesmen zwischen den Gewebezellen der verschiedensten Pflanzengruppen ganz allgemein verbreitet sind, ist seit langem bekannt. In einer zusammenfassenden Arbeit hat MÜHLDORF (1937) alle bisherigen Untersuchungen und Ergebnisse zusammengestellt und sich mit den Gründen für oder gegen die Existenz von Innenplasmodesmen und deren plasmatischer Natur eingehend auseinandergesetzt. Es war also naheliegend, in gleicher Weise auch das Vorkommen von Außenwandplasmodesmen in den verschiedenen Pflanzengruppen und pflanzlichen Organen zu untersuchen.

SCHUMACHER (1942) fand in den Blättern, Blattstielen und Ranken verschiedener *Passifloren* Außenwandplasmodesmen. Die gleichen Strukturen konnte er auch bei gelegentlichen Stichproben an *Cucurbita pepo*, *Bryonia dioica*, *Cyclanthera pedata*, *Thladiantha dubia*, *Ecballium elaterium*, *Melothria punctata*, *Momordica charantia* und *Viola cornuta* beobachten. Dagegen fielen die Versuche an den Blättern von *Vanilla planifolia*, *Erythroxylon Coca*, *Senecio grandifolius*, *Rubus rosaefolius*, *Viburnum sp.*, *Piper macrophyllum*, *Hibiscus Cooperi*, *Leea sanguinea*, *Tamus communis* und *Nicotiana glauca* negativ aus. Das erste Ergebnis SCHUMACHERS — das Auftreten von Außenwandplasmodesmen in verschiedenen Pflanzenfamilien — bewies, daß diese Strukturen keine Besonderheit der Passifloren sind. Jedoch schien das negative Ergebnis bei den anderen oben angeführten Pflanzen den Gedanken nahezulegen, daß Außenwandplasmodesmen nicht die gleiche allgemeine Verbreitung besäßen, wie es bei Innenplasmodesmen der Fall ist.

Um diese letzte Frage, ob Außenwandplasmodesmen allgemein im Pflanzenreich vorkommen oder ob sie nur auf bestimmte Familien beschränkt sind, entscheiden zu können, mußte ein möglichst umfang-

[1] Nach einer mündlichen Mitteilung von Herrn Prof. Dr. H. ULLRICH ist es diesem gelungen, die Außenwandplasmodesmen auch ohne Fixierung mit seinem gefrier-polarisationsoptischen Verfahren sichtbar zu machen. Über diese wichtige Bestätigung der hier vorgetragenen Ergebnisse wird der Autor an anderer Stelle selbst berichten.

reiches Material untersucht werden. Im folgenden habe ich die untersuchten Pflanzen systematisch zusammengestellt.

Die in dieser Aufstellung und in allen späteren Darstellungen angewandten Zeichen und Abkürzungen haben folgende Bedeutung. Ein + bedeutet: Außenwandplasmodesmen sind vorhanden, (++++ = sehr viele; + = wenige), ein — bedeutet: keine Außenwandplasmodesmen gefunden; cut. heißt: es ist eine cutinisierte Außenwand vorhanden, die eine Sichtbarmachung der Außenwandplasmodesmen verhindert, so daß in diesen Fällen keine bestimmte Aussage möglich ist. Steht keine besondere Organbezeichnung hinter dem Objekt, so ist immer das Laubblatt gemeint.

Dikotylen.

Polycarpicae

Lauraceae . . . . . Cinnamomum glanduliferum ++ (dünne Außenwand)

Ranunculaceae . . . . . Delphinium cultorum „Föhn" ++++

Nepenthaceae . . . . . Nepenthes superba ++++ Drüsen der Innenwand, — in der Außenwand. cut.

Rosales

Saxifragaceae . . . . . Bergenia ciliata ++++

Rosaceae . . . . . Prunus domestica Fruchtschale — cut.
Malus domestica Fruchtschale — cut.

Leguminosae

Mimosaceae . . . . . Mimosa pudica ++++ dünne Außenwand
Acacia neriifolia — cut.

Papilionaceae . . . . . Vicia faba ++++, Stengel ++++, Desmodium gyrans ++, dünne Außenwand, Canavalia gladiata +

Myrtales

Myrtaceae . . . . . Eucalyptus globulus junges Blatt ++++, altes — cut.

Rhoeadales

Papaveraceae . . . . . Papaver Rhoeas Blatt und Fruchtschale +++

Parietales

Droseraceae . . . . . Drosera capensis Blatt und Tentakel ++++

Violaceae . . . . . Viola tricolor ++++

Passifloraceae . . . . . P. edulis, P. coerulea, P. suberosa, P. viridiflora, P. incarnata, P. racemosa, P. coriacea, P. alba, P. laurifolia, P. quadrangularis, P. maculifolia, P. trifasciata, P. mollissima: Blatt, Stengel, Ranke und Blumenblätter ++++

Columniferae

Malvaceae . . . . . Hibiscus syriacus Blumenblätter ++++, Hibiscus Cooperi ++, Malope trifida ++++

Tiliaceae . . . . . Sparmannia africana ++++
Tilia spec. ++ (dünne Außenwand)

Gruinales

Geraniaceae . . . . . Pelargonium zonale ++++ (dünne Außenwand)

Balsaminaceae . . . . . Impatiens Oliveri, I. Sultani, I. glanduligera ++++

Erythroxylaceae . . . . Erythroxylon Coca Blattoberseite —, Blattunterseite ++++

Therebinthales

Hippocastanaceae . . . . Aesculus hippocastanum ++++

Celastrales
Celastraceae . . . . . Evonymus japonica ++
Staphyleaceae . . . . Staphylea colchica ++ (sehr dünne Außenwand)
Piperales . . . . . Piper betle ++, Piper macrophyllum? (Sehr dünne Außenwand)

Urticales
Moraceae . . . . . Ficus Saussureana — cut.
Brosimum spec. ++ (sehr dünne Außenwand)
Cannabinaceae . . . . . Cannabis sativa ++++

Tricoccae
Euphorbiaceae . . . . . E. palustris, E. bubalina, E. Regis Jubae, E. splendens, E. Myrsinites, E. mamillaris, E. pulcherima, Codiaeum variegatum, Synadenium Grantii: Blatt und Cyathium ++++ (nur bei Syn. Grantii bei Blättern — cut.)

Centrospermae
Cactaceae . . . . . Peireskia aculeata +
Caryophyllaceae . . . . Dianthus caryophyllus ++++

Primulales
Primulaceae . . . . . Primula japonica, Pr. elatior, Pr. acaulis, Pr. frondosa, Pr. denticulata, Pr. Veitchii, Pr. sinensis, Pr. obconica, Pr. Florindae, Pr. Beesiana, Pr. saxatilis, Pr. pulverulenta ++++, Cyclamen europaeum Blatt und Blüte ++++, Dodekatheon ++++

Plumbaginales
Plumbaginaceae . . . . Statice elata, Armeria maritima: beide macerieren vollständig, so daß ein Nachweis unmöglich ist.

Diospyrales
Styracaceae . . . . . Pterostyrax ++++

Contortae
Apocynaceae . . . . . Nerium oleander — cut.
Asclepiadaceae . . . . . Hoya carnosa Blatt — cut., Blüte: Oberseite — cut., Unterseite ++++, Stephanotis floribunda Blatt ++, Blüte ++++, Asclepias curassavica ++ (dünne Außenwand), Periploca graeca ++++, Gomphocarpus physocarpus ++++
Oleaceae . . . . . Olea europaea — cut.

Tubiflorae
Convolvulaceae . . . . . Convolvulus sepium ++++, Ipomoea digitata +++
Boraginaceae . . . . . Symphytum officinale ++++
Labiatae . . . . . Brunella sp. ++ (dünne Außenwand), Stachys alpina ++ (dünne Außenwand), Melissa off., Rosmarinus off., Mentha piperita ++, Coleus hybridus +++
Polemoniaceae . . . . . Cobaea scandens Blatt und Blüte ++++

Personatae
Solanaceae . . . . . Nicotiana tabacum, N. glauca +++ (dünne Außenwand), Petunia ++++, Datura arborea Blüte und Blatt ++++
Lentibulariaceae . . . . Pinguicula Blatt maceriert vollständig, so daß kein Nachweis möglich ist
Gesneriaceae . . . . . Achimenes heterophylla ++++, Saintpaulia ionantha ++, Streptocarpus hybridus ++, Gesneria cardinalis ++, Smithiantha zebrina ++, Kohleria bogotensis ++
Acanthaceae . . . . . Ruellia rosea ++++

Rubiales	
Caprifoliaceae	Symphoricarpus racemosus Blatt ++++, Fruchtwand ++++, Symphoricarpus Heyeri ++++, Viburnum Tinus — cut.
Cucurbitales	
Cucurbitaceae	Benincasa cerifera Frucht — cut., Gurania Mackoyana ++, Cyclanthera explodens +++, Ecballium elaterium +++, Lagenaria vulgaris +
Synandrae	
Compositae	Inula Helenium ++, Kleinia Galpinii ++++, Senecio cineraria — cut., Senecio grandifolius ++
	Monokotylen.
Liliiflorae	
Liliaceae	Yucca filamentosa Blütenblatt ++++, Lilium martagon Blütenblatt ++++, Blatt? Aloë succotrina Blatt — cut., Blütenblatt ++++, Aloë striata Blatt — cut., Blütenblatt ++++, Galtonia candicans Blütenblatt ++++
Dioscoreaceae	Testudinaria +++
Amaryllidaceae	Clivia Blütenblatt ++++
Scitamineae	
Musaceae	Strelitzia reginae Blatt — cut., Blütenblatt ++++
Gynandrae	
Orchidaceae	Cymbidium Lowianum Blütenblatt ++++, Vanilla planifolia — cut.
Spadiciflorae	
Araceae	Anthurium Scherzerianum Spatha ++++

Das Resultat dieser Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse gibt uns eine klare Antwort auf die oben gestellte Frage: *Die Außenwandplasmodesmen sind keine Besonderheit bestimmter Pflanzengruppen, sondern eine weitverbreitete Erscheinung innerhalb der Angiospermen.*

Wie aus den späteren Abschnitten hervorgehen wird, vermag eine summarische Untersuchung vor allem bei negativen Ergebnissen keine unbedingte Sicherheit zu bieten. Erst eine eingehende Prüfung unter optimalen Bedingungen kann entscheiden, ob das Ausbleiben der Reaktion ein absolutes oder temporäres ist. Daher mag manches nur schwach positive Ergebnis der vorstehenden Tabelle, das vor der später erlangten Erkenntnis der großen Labilität der Strukturen gewonnen wurde, noch nach der stärker positiven Seite zu verschieben sein, sobald unter wirklich optimalen Bedingungen experimentiert wird. Darüber wird in den folgenden Abschnitten noch Näheres mitgeteilt werden.

2. *Vorkommen von Außenwandplasmodesmen in verschiedenen Organen derselben Pflanze.*

Wenn auch jede Pflanze, wie die Zusammenstellung es uns deutlich macht, wahrscheinlich an den verschiedensten Stellen ihres Körpers Außenwandplasmodesmen aufweist, so zeigt die gleiche Zusammen-

stellung doch auch, daß nicht alle Organe einer Pflanze gleichzeitig solche in gleicher Zahl aufweisen müssen. So fand ich bisher Außenwandplasmodesmen niemals in *Wurzeln*! Auch konnten niemals Außenwandplasmodesmen beobachtet werden in Pflanzenorganen, deren Epidermisaußenwände *cutinisiert* waren. Ob bei einer cutinisierten Außenwand tatsächlich keine Außenwandplasmodesmen vorhanden sind oder ob, was wahrscheinlicher ist, die Cutinisierung bei der angewandten Fixierungsmethode ein Sichtbarwerden verhindert, muß vorläufig dahin gestellt bleiben. In den Außenwänden aller übrigen Organe konnte ich dagegen immer Plasmodesmen feststellen, wenn bei der Fixierung des Untersuchungsmaterials optimale Bedingungen vorlagen.

Das am besten geeignete Pflanzenorgan zum Nachweis von Außenwandplasmodesmen ist wohl das *Laubblatt*. Es besitzt nämlich gegenüber der macerierenden Wirkung des Fixiergemisches die größte Widerstandskraft. Wie die Zusammenstellung im voraufgehenden Abschnitt II 1 zeigt, können Außenwandplasmodesmen in den Epidermen von Laubblättern — mit Ausnahme der Blätter mit cutinisierter Außenwand — sowohl oberseits wie unterseits immer beobachtet werden. Wann in der Entwicklung eines Blattes zum ersten Male Außenwandplasmodesmen sichtbar werden, habe ich mit Sicherheit nicht feststellen können. Gerade die zarten Gewebe des Vegetationskegels macerieren rasch und lassen sich deshalb kaum schneiden. Dazu kommt noch, daß die Außenwände dieser jungen Zellen sehr dünn sind, so daß eine sichere Feststellung, ob die eventuell beobachteten Gebilde tatsächlich Außenwandplasmodesmen oder nur körnige Farbniederschläge sind, äußerst schwierig ist. An einigen wenigen geglückten Schnitten habe ich aber bei *Passiflora quadrangularis* in den Epidermisaußenwänden noch ganz junger Blätter plasmodesmenartige Strukturen mit Sicherheit beobachten können. Diese jungen Blätter lagen noch dicht dem Vegetationskegel an und hatten eine Länge von etwa 10 mm, einzelne sogar nur von 5 mm. (Ausgewachsene Blätter besitzen im Durchschnitt eine Länge von etwa 20—30 cm.) Eine ähnliche Beobachtung findet sich bereits bei SCHUMACHER (1942, S. 533).

Neben den gewöhnlichen Epidermiszellen konnte ich auch in den *Schließzellen* fertig ausgebildeter Blätter stets zahlreiche Außenwandplasmodesmen erkennen. In der Aufsicht waren sie meist in 2 konzentrischen Halbkreisen zu sehen, wobei der äußere zu den angrenzenden Epidermisnebenzellen hin, der innere nahe bei den Cuticularhörnchen lag (Abb. 6). Im Querschnitt konnte ich aber auch noch Außenwandplasmodesmen in der die Atemöffnung begrenzenden Zellwand beobachten. Jedoch habe ich solche Strukturen aus begreiflichen Gründen ähnlich wie SCHUMACHER niemals in den cutinisierten Wandabschnitten der Schließzelle feststellen können (Abb. 7).

In den *Ranken* von *Passiflora coerulea*, *Passiflora quadrangularis* und *Passiflora incarnata* habe ich stets Außenwandplasmodesmen nachweisen können. In den *Stengeln* der genannten Passifloren fand ich solche nur in den ganz jungen Sprossabschnitten, in den meisten Fällen innerhalb einer Zone, die vom Vegetationspunkt an 5—10 cm nach abwärts reichte. Bei *Vicia faba* hatte diese Zone jedoch bei einer etwa 70 cm hohen Pflanze eine Länge von 20 cm.

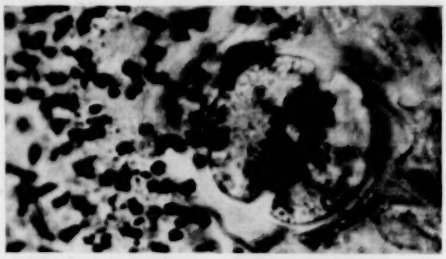


Abb. 6. *Passiflora quadrangularis.* Aufsicht auf die Blattunterseite. Schließzelle mit dem inneren Ring von Außenwandplasmodesmen beiderseits der Zentralspalte. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Wasserimmersion 90mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 9mal.

Die Untersuchung von *Blütenblättern* gestaltete sich sehr schwierig, da diese Organe fast immer sehr zart sind und nach mehrstündiger Fixierung oft so weich werden, daß sie nicht mehr zu schneiden sind. Waren die Blütenblätter aber einigermaßen widerstandsfähig, dann waren auch in ihnen in allen Fällen Außenwandplasmodesmen zu sehen! Als besonders geeignet erwiesen sich die Blütenblätter von *Passiflora coerulea*, *Aloë striata*, *Stephanotis floribunda*, *Hoya carnosa*, *Datura arborea*, *Strelitzia Reginae*, *Cymbidium Lowianum* und *Cymbidium Traceyanum*.

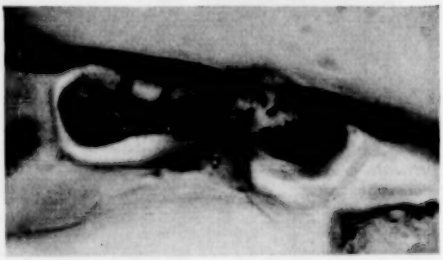


Abb. 7. *Primula pulverulenta.* Schließzellen im Querschnitt. Besonders in der linken halb schräg angeschnittenen Zelle in der Außenwand deutliche Plasmodesmen. Optische Daten wie bei Abb. 6.

Deutliche Außenwandplasmodesmen waren auch in den *Nektarien* von *Passiflora coerulea*, *Aloë striata* und *Euphorbia pulcherima* zu beobachten. Bei *Aloë striata* gelang es mir, auch in der Außenwand der *Antheren* mit Sicherheit zahlreiche Außenwandplasmodesmen festzustellen.

Unter den *Haaren* habe ich am häufigsten die Drüsenhaare an Blattquerschnitten von Primeln untersucht, und zwar vor allem bei *Primula acaulis* und *Primula elatior*. Hier finden sich auf der Blattunterseite zahlreiche, mehrzellige Drüsenhaare mit einzelligen Drüsenköpfchen. Daneben kommen noch Drüsenhaare mit einer Stielzelle und mehrzelligem Köpfchen vor. Wenn in den gewöhnlichen Epidermisaußenwänden des Blattes Plasmodesmen zu beobachten waren, fand ich auch stets in den Außenwänden der Drüsenstielzellen außerordentlich viele

Plasmodesmen (Abb. 8). Dagegen waren in den Außenwänden der eigentlichen sezernierenden Drüsenzellen sehr selten Außenwandplasmodesmen mit Sicherheit zu beobachten, selbst wenn die übrigen Epidermiszellen bzw. Stielzellen solche reichlich aufwiesen.

Das gleiche Resultat erhielt ich bei den Drüsenhaaren von *Pelargonium zonale*. Auch bei *Drosera capensis* konnte ich zwar in den Außenwänden der Tentakelstiele zahlreiche Plasmodesmen feststellen, dagegen niemals in den Außenwänden des Drüsenköpfchens. Dagegen fand ich bei den Drüsenhaaren von *Nicotiana tabacum* in den meisten Fällen Außenwandplasmodesmen auch in der Drüsenköpfchenwandung. Auch bei den Blattkannen von *Nepenthes superba* waren in den Außenwänden der Verdauungsdrüsen plasmodesmenartige Strukturen zu erkennen, während in den stark cutinisierten gewöhnlichen Epidermisaußenwänden der Kanneninnenseite begreiflicherweise nie welche zu beobachten waren.

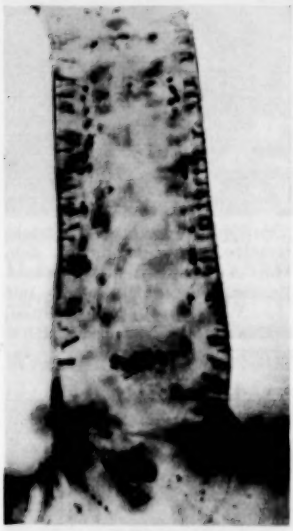


Abb. 8.
Primula acaulis. Außenwandplasmodesmen in der Stielzelle eines Drüsenhaares. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Objektiv 45mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 450mal.

Die Schwierigkeit bei der Beurteilung, ob in den Außenwänden von Drüsenzellen plasmodesmenartige Strukturen vorhanden sind oder nicht, kommt vor allem daher, daß diese Außenwände sehr zart und dünn sind und die Zellen daher sehr leicht kollabieren. Auch bei normalen Epidermiszellen, deren Außenwände dünn sind, läßt sich ja oft schwer entscheiden, ob echte Außenwandplasmodesmen vorhanden sind oder nicht, d. h. ob es sich bei den eventuell zu beobachtenden Strukturen nur um körnige koagulierte Plasmateilchen handelt, die der Außenwand dicht aufliegen, oder gar um Niederschläge, die bei der Fixierung oder der Färbung entstanden sein können. Aus diesen Gründen muß daher vorerst die generelle Beantwortung der interessanten Frage, ob in sezernierenden Drüsenzellen ebenso allgemein oder gar verstärkt Außenwandplasmodesmen gefunden werden wie in anderen Epidermiszellen, noch offenbleiben. In einigen Fällen sind sie zweifellos vorhanden, doch kaum zahlreicher als in den nicht sezernierenden Zellen.

3. Der Bau der Außenwandplasmodesmen.

Abb. 9 zeigt einen Blattquerschnitt von *Primula acaulis*. Die Schnittebene liegt hier aber nicht senkrecht zur Betrachtungsrichtung; vielmehr ist der ganze Schnitt etwas gekippt, so daß man schräg auf die Epidermisaußenwand sieht. In dieser Lage des Schnittes läßt sich am besten eine Erscheinung beobachten, die ich bei allen untersuchten Objekten feststellen konnte. Die Außenwandplasmodesmen erscheinen hier nämlich deutlich als halbovale oder parabelförmige Fadenstrukturen,

deren Scheitelpunkt die Cuticula berührt und deren Äste im Lumen der Zelle endigen. Betrachtet man in diesem Zusammenhang in einem Flächenschnitt die Aufsicht auf die Blattspreite (Abb. 10), so sieht man vielfach je 2 Mündungsstellen von Außenwandplasmodesmen in der

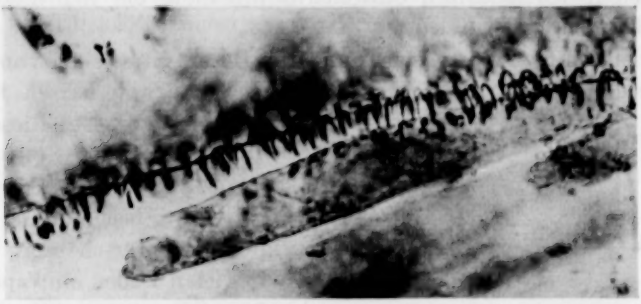


Abb. 9. *Primula acaulis.* Schrägsicht auf eine quergeschnittene Blattepidermiszelle. Parabelförmiger Verlauf der Außenwandplasmodesmen. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Objektiv 45mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 450mal.

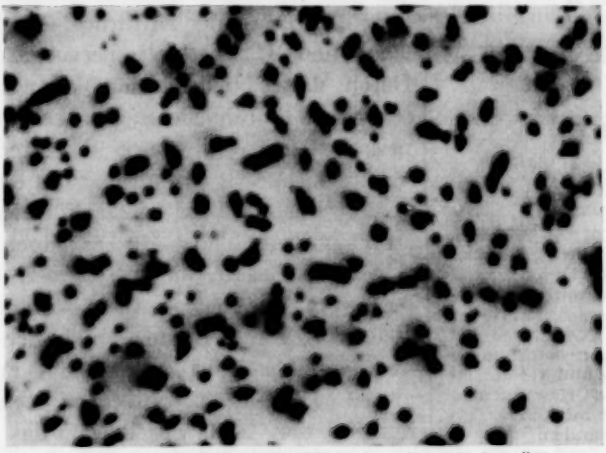


Abb. 10. *Primula acaulis.* Aufsicht auf die Blattoberseite mit den Öffnungen der Außenwandplasmodesmen. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Wasserimmersion 90mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 6mal, Gesamtvergrößerung 1800mal.

Ebene der Cuticula dicht nebeneinander liegen. Wenn ich hier von Mündungsstellen oder Öffnungen in der Cuticula spreche, so möchte ich dennoch nicht ausschließen, daß diese Öffnungen noch von sehr dünnen Cuticularmembranen überzogen sein können.

G. Volz (1952) hat ja bei elektronenoptischen Untersuchungen verschiedener pflanzlicher Cutikeln in diesen extrem dünne Stellen gefunden, die den Eindruck von Porenöffnungen erwecken. Jedoch konnte sie bei keinem untersuchten Objekt wirklich freie Öffnungen nachweisen. Andererseits hält sie es nicht für ausgeschlossen, daß solche tatsächlich da sein können, vor allem bei dicken Cutikeln, die elektronenoptisch nicht durchstrahlbar sind.

Färbungen zum Nachweis von etwa noch vorhandenen cuticulären Schichten über diesen Trichtern verliefen immer negativ, während sich die Cuticula rings um diese Trichteröffnungen stets deutlich anfärbte. Jedoch bleibt nicht ausgeschlossen, daß wegen der extremen Feinheit der vielleicht vorhandenen Cuticularmembranen ein lichtmikroskopisches Erkennen unmöglich ist.

Die vielfach paarweise Anordnung der Durchtrittsstellen von Außenwandplasmodesmen unter der Cuticula ist charakteristisch für Aufsichtspräparate (Abb. 10). Auf diese eigentümliche Anordnung wies bereits SCHUMACHER (1942, Abb. 3, S. 532) hin. Die Mündungsstellen liegen oft so eng beieinander, daß sie wie eine einzige Öffnung erscheinen. Jedoch lassen sie sich in vielen Fällen einwandfrei als zwei verschiedene Öffnungen erkennen, die lediglich durch Farb- und Quecksilbersalzniederschläge rinnenartig verbunden sein können, so daß der Eindruck einer einzigen, länglichen Öffnungsstelle hervorgerufen wird. Durch diese Niederschläge oder durch ein sehr enges Beieinanderliegen der Außenwandplasmodesmen wird also der Eindruck erweckt, als handle es sich hier um eine einzige zusammenhängende, parabelförmige Fadenstruktur. Tatsächlich sind es jedoch zwei verschiedene Fäden, die im Lumen der Zelle beginnen, zunächst parallel zueinander in die Wand hinein verlaufen und sich erst im obersten Abschnitt der Fäden zueinander neigen. Die beigefügten schematischen Zeichnungen der Abb. 11 sollen das Gesagte verdeutlichen.

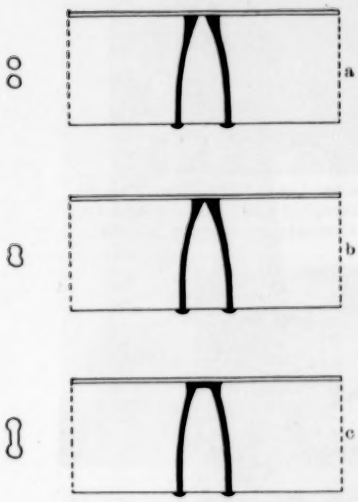


Abb. 11 a—c. Die Lage zweier Austrittsöffnungen von Außenplasmodesmen unter der hier normal angedeuteten Cuticula. Schematisch. a Öffnungen sind völlig getrennt; b Öffnungen berühren sich und verschmelzen teilweise; c Öffnungen sind rinnenartig miteinander verbunden.

Fixiert man mit Oxalsäurezusatz, so kann man beobachten, daß auch der Plasmafaden eines einzigen Plasmodesma in der Außenwand nicht ein einheitliches Gebilde darstellt, sondern in der Regel aus zwei fast parallel zueinander laufenden Teilfäden besteht (Abb. 12). Ein einziges Mal gelang es mir auch nach Salpetersäurezusatz, diese Doppelfadenstruktur der Außenwandplasmodesmen zu erkennen. Wie das beigefügte Mikrophoto (Abb. 13) zeigt, ähnelt das Bild der beiden Doppelfäden fast dem eines Chromosoms mit 2 Chromatiden. Auf einem zarten, durchgehenden Faden sind mehr oder weniger feine Körnchen aufgereiht. Ob diese Körnchen koagulierte Plasmateilchen oder andere Niederschläge der Sublimatfixierung sind, konnte bisher nicht entschieden werden. Es

scheint, daß diese Teilfäden zunächst vom Lumen der Zelle aus getrennt nach oben verlaufen und sich dann erst kurz vor der Austrittsöffnung vereinigen; denn eine gesonderte Austrittsöffnung für die Teilfäden habe ich nie beobachten können, obwohl im Aufsichtsbild bisweilen 4 Öffnungen eng beieinander lagen. Aber es war mir nie möglich, sie wirklich als Einzelöffnungen zweier Doppelfäden zu erkennen.

Abb. 12. *Primula pulverulenta.* Außenwand einer Blattepidermiszelle. Parabelförmiger Verlauf zweier Außenwandplasmodesmen und deren Doppelfadenstruktur nach Zusatz von Oxalsäure zum Fixiergemisch. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Wasserimmersion 90mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 900mal.

Abb. 13. *Primula acaulis.* Blattquerschnitt. Doppelfadenstruktur nach Zusatz von Salpetersäure zum Fixiergemisch. Optische Daten wie bei Abb. 12.

War das Untersuchungsmaterial mit Oxalsäurezusatz fixiert, so konnte ich auch häufig beobachten, daß die Außenwandplasmodesmen sich zum Zellinnern hin sogar pinselartig auffaserten. Im Zellumen endigten solche Außenwandplasmodesmen, wie schon SCHUMACHER (1942, S. 532 und Abb. 1 und 2) angibt, stets mit einem kräftigen körnigen Gebilde, das wahrscheinlich koaguliertes Plasma darstellte. Ob allerdings diese Auffaserung eine allgemeine Eigentümlichkeit aller Außenwandplasmodesmen ist, vermag ich nicht zu entscheiden, da solche Strukturen zwar sehr oft, aber nicht immer beobachtet wurden. Mikrophotographisch konnte ich solche Bilder bisher nicht genügend deutlich

festhalten, da die einzelnen Fasern zu zart waren. Sie erscheinen auf den Photos nur als eine Δ-förmige Verdickung des Endabschnittes eines Plasmafadens. Faßt man alle beschriebenen Eigentümlichkeiten der Außenwandplasmodesmen zusammen, so ergibt sich in stark schematisierter Form ein Bild, wie es Abb. 14 zeigt.

Eine weitere Eigentümlichkeit, die schon SCHUMACHER & HALBSGUTH (1939) aufgefallen war, ist die Tatsache, daß manche Plasmodesmen von der Cuticula aus nicht bis in das Zellumen oder vom Zellumen nicht bis zur Cuticula durchzugehen scheinen. Bei Innenplasmodesmen hat JUNGERS (1930) Ähnliches beobachtet und daraus sogar ableiten wollen, daß diese Innenwandstrukturen nicht plasmatisch sein könnten. Meine eigenen Beobachtungen an Außenwandplasmodesmen ergaben für die eigentümliche Unterbrechung folgende Ursachen: Direkt an der Schnittfläche kann bei nicht genau senkrechter Schnittführung ein Teil der Plasmodesmen weggeschnitten werden. Ist, wie das häufig der Fall zu sein scheint, die innere Wandfläche der Epidermisaußenwand nicht eben, sondern mit zahlreichen trichterförmigen Eindellungen besetzt, so kann ebenfalls das Bild nicht völlig durchlaufender Plasmodesmen entstehen. Da die gequollene Wand im durchfallenden Licht sehr hell und kontrastarm erscheint, werden diese Eindellungen der Wand leicht übersehen (Abb. 15 A). Die wichtigste Ursache dürfte aber, wie schon SCHUMACHER & HALBSGUTH vermuteten, in der mehr oder weniger starken Quellung der Außenwand liegen. Quillt die Wand völlig homogen, so mag ein Bild, wie es in Abb. 15 B dargestellt ist, entstehen. Bei inhomogener Quellung, bei der deutlich einzelne Wandlamellen sichtbar werden, wird ein perlschnurartiges Zerreißen der Plasmodesmen resultieren (Abb. 15 C). Schließlich kann es auch vorkommen, daß der Plasmafaden nicht reißt, sondern in seiner ganzen Länge zusammenhält. Bei der Quellung der Wand schieben sich dann die einzelnen Lamellen vom Faden herab. Doch sieht man dann häufig, daß dem Fadenende gegenüber eine leichte Eindellung der Wand vorhanden ist (Abb. 15 C).

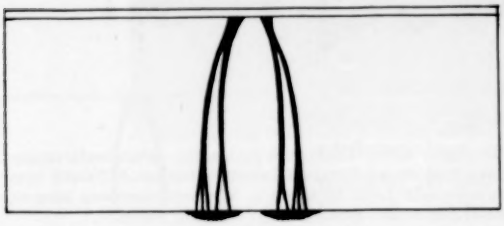


Abb. 14. Die Form der Außenwandplasmodesmen. Schematisiert.

Die *Zahl* der Außenwandplasmodesmen je Zelle vermag ich nicht genau anzugeben. Sie ist ja weitgehend abhängig von der Größe der Zelle, deren Vitalzustand und von der Art des Zusatzes zur Fixierungsflüssigkeit. Die höchsten Zahlenwerte beobachtet man bei Oxalsäurezusatz. Hier liegen die Außenwandplasmodesmen so dicht beieinander,

daß eine einwandfreie Zählung, die natürlich nur an Aufsichtspräparaten vorgenommen werden kann, unmöglich ist. Ich habe einige Male eine Schätzung versucht und bei *Primula pulverulenta* etwa 1000—1500 je $50\,\mu^2$ gefunden. *Dies bedeutet, daß die Außenfläche einer einzigen Epi-*

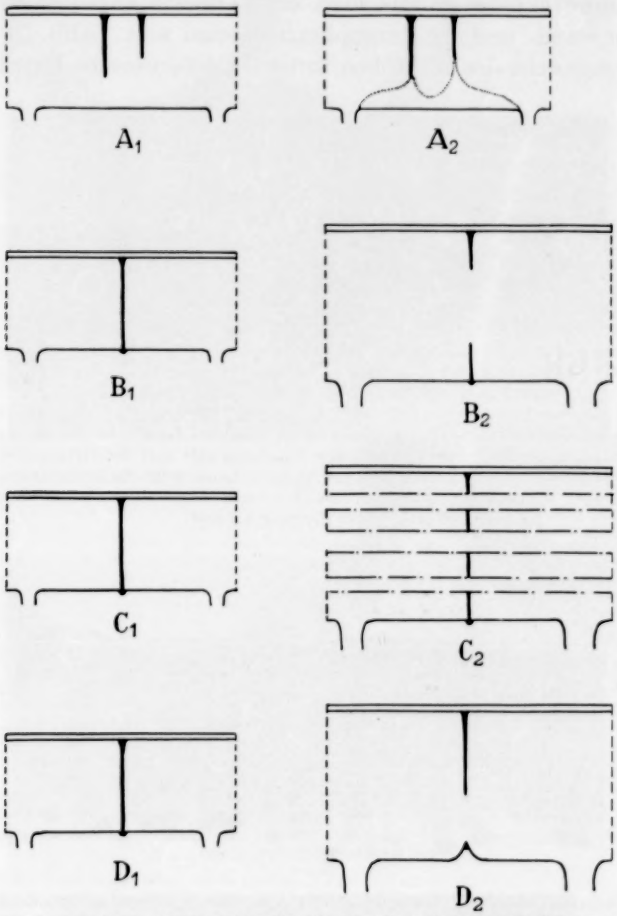


Abb. 15. A_1: Das scheinbare Bild infolge der Kontrastlosigkeit des Mittelteiles der inneren Wandfläche der Außenmembran. A_2: Das tatsächliche Bild mit den trichterförmigen Mündungsstellen im Zellumen. B_1, C_1, D_1: Außenwand vor der Quellung. B_2, C_2, D_2: Außenwand nach der Quellung.

dermiszelle rund 8000—9000 Außenwandplasmodesmen aufweisen muß. Bei Salpetersäurezusatz erhält man geringere Werte, etwa zwischen 600—800 je $50\,\mu^2$, was noch immer einige Tausend Plasmodesmen je Zellaußenfläche ergibt. Erst bei entquellenden Zusätzen (vgl. Tabelle 1, S. 151) werden die Werte wesentlich niedriger. Sie schwanken dann zwischen 2—200 je $50\,\mu^2$. Zwei Mikrophotos (Abb. 16 und 17) geben

in der Aufsicht und im Querschnitt ein Bild von der Dichte der Plasmodesmen in der Epidermisaußenwand eines Blattes von *Primula acaulis* nach Salpetersäurezusatz zum Fixiergemisch.

Von großer Wichtigkeit für die Klärung der stofflichen Natur der Außenwandstrukturen dürfte auch ein Vergleich zwischen der Gestalt der Außenwand- und der Innenplasmodesmen sein. Abb. 18 zeigt das Parenchymgewebe des mit Gilson unter Oxalsäurezusatz fixierten Blatt-

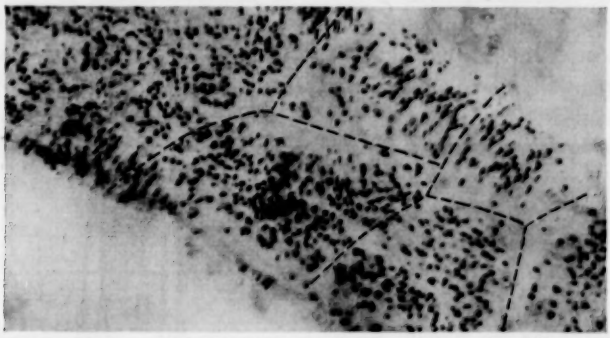


Abb. 16. *Primula acaulis*. Aufsichtsbild der Blattoberseite mit den Öffnungen der Außenwandplasmodesmen. Schnittbreite 30 μ, gestrichelte Linie zeigt die Zellgrenzen an. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Objektiv 45mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 450mal.

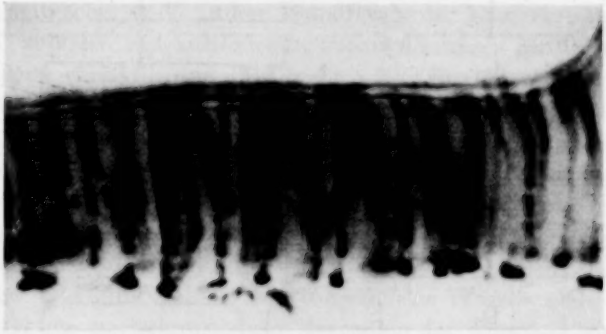


Abb. 17. *Primula acaulis*. Blattquerschnitt. In der Epidermisaußenwand zahlreiche Plasmodesmen. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Wasserimmersion 90mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 6mal, Gesamtvergrößerung 1800mal.

medianus von *Primula pulverulenta*. Abb. 19 und 20 sind Ausschnittsvergrößerungen aus diesem Übersichtsbild. Besonders diese letzteren Abbildungen zeigen deutlich, daß Außenwand- und Innenplasmodesmen in ihrer Form und Färbbarkeit weitgehend übereinstimmen. Selbst die oben erwähnte paarweise Anordnung und der parabelförmige Verlauf läßt sich auch bei den Innenplasmodesmen teilweise erkennen (z. B. Abb. 19, Pfeil).

Wichtig ist ferner die Tatsache, daß Plasmodesmen auch in die Intercellularen hineinreichen (Abb. 19 und 20), wie dies schon von

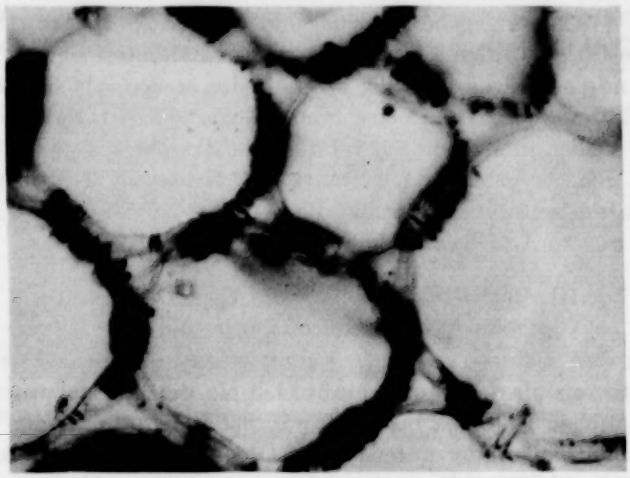


Abb. 18. *Primula pulverulenta*. Parenchymzellen aus dem Querschnitt des Blattmedianus mit Innenplasmodesmen. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Objektiv 45mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 450mal.

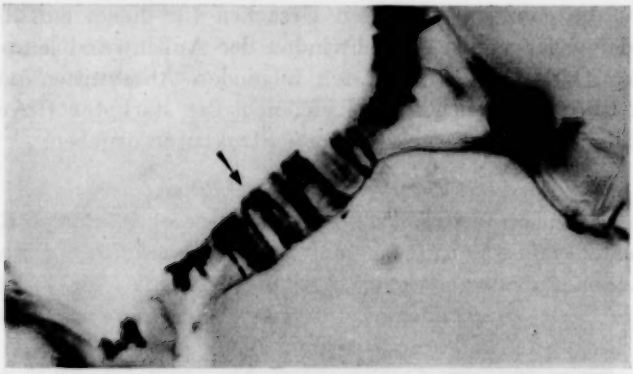


Abb. 19. *Primula pulverulenta*. Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 20. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Wasserimmersion 90mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 900mal.

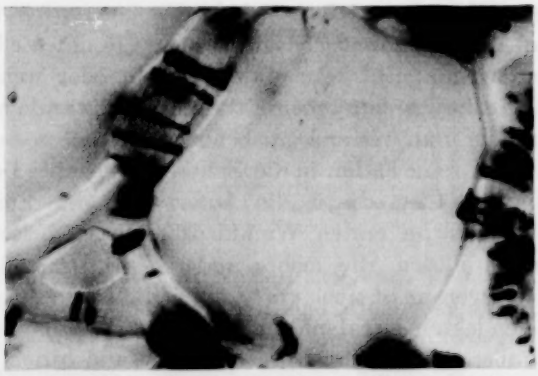


Abb. 20. *Primula pulverulenta*. Innenplasmodesmen. Optische Daten wie bei Abb. 21.

JUNGERS (1930) angegeben wurde und von W. SCHUMACHER (1942, S. 542) bestätigt werden konnte. Diese Plasmodesmen könnte man den Außenwandplasmodesmen völlig an die Seite stellen, da sie ja an lufterfüllte Räume grenzen, die eine unmittelbare Fortsetzung des Außenmediums in das pflanzliche Gewebe hinein darstellen. Jedenfalls sind sie keine Plasmaverbindungen zwischen 2 benachbarten Protoplasten im alten Sinne, sondern verbinden die Zelle mit der Außenwelt, wie dies auch für unsere Außenwandstrukturen gilt.

III. Beobachtungen über die Veränderlichkeit der Außenwandplasmodesmen.

Schon bei meinen ersten Untersuchungen über das Vorkommen von Außenwandplasmodesmen mußte ich oft die Feststellung machen, daß an manchen Tagen, ja bisweilen während einer oder zweier Wochen, in den Außenwänden der untersuchten Objekte keine Plasmodesmen zu sehen waren. Anfänglich glaubte ich, wie bereits erwähnt, den Grund hierfür in der Zusammensetzung und Wirkweise des Fixiergemisches suchen zu müssen. Im Laufe meiner weiteren Untersuchungen gelang es jedoch, die ganz andersartigen Ursachen für dieses auffällige zeitweilige oder sogar völlige Verschwinden der Außenwandplasmodesmen zu finden. Darauf soll nun in den folgenden Abschnitten näher eingegangen werden, da sich daraus vielleicht die stärksten Hinweise auf die eigentliche Natur dieser seltsamen Strukturen ergeben.

1. Das Vergilben der Blätter.

Ist das Vergilben eines Blattes so weit fortgeschritten, daß die Blattspreite makroskopisch deutlich gelb gefärbt erscheint, so kann man niemals mehr Außenwandplasmodesmen nachweisen, gleichgültig, welche Säure man zur Fixierungsflüssigkeit hinzusetzt. Fixiert man aber ein Blatt, wenn dessen Vergilbungsprozeß erst beginnt, so sind dieselben, wenn auch in der bereits früher beschriebenen, etwas abweichenden Form, noch vorhanden. Untersucht man nun Blattstücke eines noch grünen Blattes, das aber bereits einzelne deutliche Vergilbungsflecke aufweist, dann zeigen sich in den bereits vergilbten Blattstücken keine Außenwandplasmodesmen mehr, in den Zellen des noch grünen Teiles dagegen sieht man oft noch mehr oder weniger kräftige körnige Gebilde allseitig den Innenflächen der Zellwände anliegen. An vielen Stellen kann man weiter sogar beobachten, daß von diesen körnigen Gebilden noch feine Fäden in die Zellwände gehen. Dabei endigen jedoch diejenigen Fäden, die in die Außenwand der Epidermiszellen hineingehen, bereits im ersten Wanddrittel. Die übrigen nach den Seiten ziehenden Fäden, die nichts anderes als Innenplasmodesmen sind, reichen dagegen meist noch von Zellumen zu Zellumen. In stärker vergilbten Zellen lassen sich dann nur noch diese körnigen Gebilde feststellen, nicht aber die von ihnen aus in die Wand hinein verlaufende Fadenstrukturen. Doch habe ich keinen Zweifel, daß alle diese merk-

würdigen Gebilde mit den ursprünglichen Plasmodesmen zusammenhängen und verschiedene Formen des Abbaues darstellen. In Zellen aus

Abb. 21. *Passiflora quadrangularis.* Blatt. Bei beginnender Vergilbung zeigen sich nur im lumennahen Wandteil Außenwandplasmodesmen. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3. Objektiv 45mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 6mal, Gesamtvergrößerung 900mal.

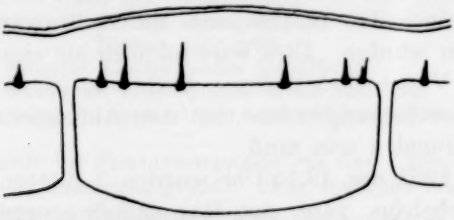


Abb. 22. Schematisierte Zeichnung von Abb. 21.

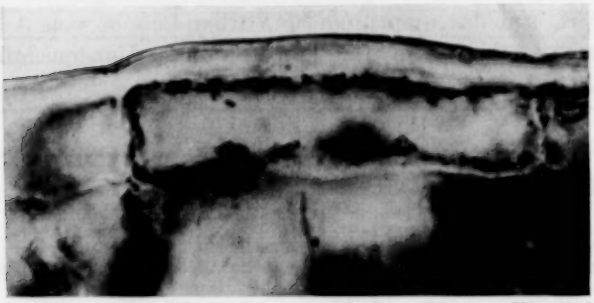


Abb. 23. *Passiflora quadrangularis.* Blattquerschnitt. Körniger Wandbelag bei fortgeschrittener Vergilbung. Optische Daten wie bei Abb. 21.

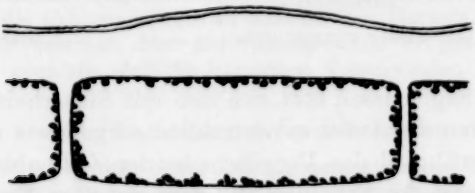


Abb. 24. Schematisierte Zeichnung von Abb. 23.

völlig vergilbten Blattstücken zeigen sich auch keine körnigen Strukturen mehr, d. h. die Plasmodesmen sind offenbar völlig abgebaut. Die Abb. 21 und 23 zeigen diese körnigen und fadenförmigen Stadien des Plasmodesmenabbaues.

Bereits E. STRASBURGER (1901, S. 566ff.) hat auf die Erscheinung, daß Innenplasmodesmen beim Vergilben eines Blattes verschwinden können, hingewiesen. Allerdings erwähnt er auch, daß er selbst bei völlig vergilbten und abgestorbenen Blättern zuweilen noch Innenplasmodesmen darstellen konnte. Es erscheint mir nun durchaus möglich, daß bei den allgemeinen Abbauprozessen während des Vergilbungsvorganges zuerst die empfindlicheren Außenwandplasmodesmen verschwinden. Dagegen mögen die Innenplasmodesmen, vielleicht unter anderem wegen ihrer Bedeutung für die Wegschaffung wichtiger Substanzen, sehr viel länger intakt gehalten werden.

Diese Beobachtung, daß mit dem Vergilben eines Blattes die Außenwandplasmodesmen verschwinden, wurde zuerst an natürlich vergilbenden Blättern gemacht. Bei *Passiflora edulis* konnte ich das Vergilben eines Blattes aber auch künstlich durch Verdunkelung mit Stanniolfolien beeinflussen. Läßt man dabei das verdunkelte Blatt nicht völlig vergilben, dann ergrünt es nach der Entfernung des Verdunkelungsmaterials u. a. wieder ziemlich rasch. Ich habe nun untersucht, ob nach dem Wiederergrünen des Blattes auch die Außenwandplasmodesmen wieder erscheinen würden. Dies wäre nämlich ein eindeutiges Zeichen dafür, daß das Verschwinden dieser Außenwandstrukturen ganz eng mit den Lebenserscheinungen bzw. mit den Abbauprozessen innerhalb des Plasmas verbunden sein muß.

Am 28. Mai 1952 um 18,15 Uhr wurden 3 Blätter von *Passiflora edulis* im Gewächshaus ganz mit Stanniolfolien verdunkelt. Vorher wurde ein kleines Stück aus jedem der 3 Blätter abgeschnitten und in Gilson fixiert, um das ursprüngliche Vorhandensein von Außenwandplasmodesmen festzustellen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen zeigt die folgende Tabelle 3.

Tabelle 3.

28. 5.	Nicht verdunkelte Blattstücke bei Beginn des Versuches: ++++	
5. 6.	Den verdunkelten Blättern wurde ein Stück entnommen. Blätter sind hellgrün geworden: +	Kontrolle: +++ (ein nicht verdunkeltes Blatt)
13. 6.	Ziemlich stark angegilbt (Folien wurden entfernt): –	Kontrolle: ++++
30. 6.	Blätter wieder normal grün: +++	Kontrolle: ++++

Aus diesen Ergebnissen läßt sich also mit Sicherheit schließen, daß das Verschwinden der Außenwandstrukturen irgendwie mit den Abbauprozessen, die während des Vergilbens in der Zelle ablaufen, ihr Neuauftreten aber mit der Erholung und dem erneuten Ergrünen eng verbunden sein muß. Demgegenüber konnte in keinem einzigen Falle bei völliger, irreversibler Vergilbung eines Blattes jemals noch Außenwandplasmodesmen nachgewiesen werden, gleichgültig, ob dieser Vergilbungs-

prozeß sich natürlich am Stamm vollzog, oder ob er durch Verdunkelung oder schwere Verletzung eines Blattes künstlich herbeigeführt wurde.

Hier mögen auch einige Versuche erwähnt werden, die bereits Ende 1950 in der Absicht gemacht wurden, den Einfluß der *Unterkühlung* eines abgeschnittenen Zweiges auf die Zahl der Außenwandplasmodesmen festzustellen. Die Versuche wurden folgendermaßen durchgeführt:

Am 13. Oktober 1950 18 Uhr wurde ein kräftiger, abgeschnittener Zweig von *Passiflora coerulea* mit noch vollgrünen Blättern in einem Wasserglas in einen dunklen Kühlschrank gestellt. Die Temperatur im Innern des Kühlschrankes betrug $+2^{0}$ C. Vor dem Einstellen des Zweiges in den Kühlschrank wurde ein Blattstück fixiert.

Tabelle 4.

Zeit	Zustand der Blätter	Zahl der Außenwand-plasmodesmen
13. 10.	Vor der Unterkühlung	++++
16. 10.	Blätter noch grün	++++
26. 10.	Blätter noch grün	++++
13. 11.	Einzelne Blätter leichte Vergilbung	+
1. 12.	Blätter hellgrün, Chloroplasten in der Auflösung	±
20. 12.	Blätter gelbgrün, nur noch sehr wenige Chloroplasten	−

Gleichzeitig wurde bei Zimmertemperatur ein Zweig von *Passiflora coerulea* am Tageslicht in ein Wasserglas gestellt. Beim täglichen Wasserwechsel wurde auch die Schnittfläche des Zweiges erneuert.

Tabelle 5.

Zeit	Zustand der Blätter	Zahl der Außenwand-plasmodesmen
13. 10.	Alle Blätter noch vollgrün	++++
16. 10.	Alle Blätter noch vollgrün	+++
26. 10.	Die meisten Blätter zeigen Vergilbungsflecke	±
13. 11.	Alle Blätter vergilbt	−

Diese Versuche zeigen deutlich, daß allein das Abschneiden eines Zweiges, also eine starke Verwundung, keinen direkten Einfluß auf das Verschwinden der Außenwandplasmodesmen in den Blättern hat, wohl aber, daß parallel mit dem Abbau der Chloroplasten und des Plasmas auch der Abbau der Außenwandplasmodesmen verläuft. Gerade die Untersuchungen an unterkühlten Blättern zeigen diese auffallende Beziehung zwischen dem hier verlangsamten Vergilbungsprozeß eines Blattes und dem ebenfalls auffällig langsamen Verschwinden der Außenwandplasmodesmen.

2. Die Plasmolyse von Epidermiszellen.

Das Verschwinden der Außenwandplasmodesmen beim Vergilben eines Blattes beweist, daß es sich hier um sehr labile Strukturen in der Epidermisaußenwand handelt. Diese Labilität ist ein starker Hinweis darauf, daß es Gebilde sein müssen, die selbst plasmatischer Natur oder aber doch sehr eng mit der Tätigkeit des Plasmas verbunden sind.

Diese Vermutung versuchte ich auch durch das nähere Studieren der Folgen einer *Plasmolyse* der Epidermiszellen zu bestätigen; denn wenn man annimmt, daß die Außenwandstrukturen Plasmanatur besitzen oder aber wenigstens einen sehr engen Kontakt mit dem Plasma haben, dann läßt sich erwarten, daß bei der künstlichen Ablösung des Protoplasten von der Zellwand auch die Außenwandstrukturen aus der Wand herausgelöst und eingezogen werden.

Ich habe in der Zeit vom 2. April 1953 bis zum 30. Mai 1953 8 Serienversuche mit je 5 Einzelversuchen durchgeführt. Versuchsmaterial waren die Blätter von *Passiflora coerulea*, *Primula acaulis*, *Primula pulverulenta* und die Haare des Labellums von *Cymbidium Lowianum*. Ich führe in den folgenden Tabellen 6 und 7 nur die Ergebnisse am Labellum von *Cymbidium* an, da deren Haarzellen groß und plasmareich sind und somit sehr leicht beobachtet werden können. Als Plasmolyticum benutzte ich Traubenzucker und Calciumchlorid. Das Labellum wurde in 3 Teile geschnitten. Der erste Teil wurde sofort in Gilson fixiert, der zweite Teil wurde plasmolysiert und dann fixiert, während schließlich der letzte Teil plasmolysiert, deplasmolysiert und dann erst fixiert wurde. In der ersten Versuchsserie wurden die Plasmolytica in 0,2—0,4—0,6—0,8—1,0 molaren Konzentrationsreihen angesetzt.

Tabelle 6. *Labellumhaare von Cymbidium Lowianum. Versuch vom 2. April 1953.*

	Zeit des Eingriffes	Zahl der Außenwand-plasmodesmen
Kontrolle	20,00 Uhr fixiert	++++
Plasmolysiert (Traubenzucker)	20,00—21,00 Uhr	++
Deplasmolysiert	21,00—22,00 Uhr	±
Kontrolle	20,00 Uhr fixiert	++++
Plasmolysiert (Calciumchlorid)	20,00—20,30 Uhr	±
Deplasmolysiert	20,30—21,00 Uhr	–

Es zeigte sich also unter dem Einfluß der Plasmolyse eine deutliche Abnahme in der Anzahl der Außenwandplasmodesmen; ganz verschwanden sie jedoch nur bei Anwendung von Calciumchlorid als Plasmolyticum. Die gleichzeitige Kontrolle des Plasmolyseverlaufes an Handschnitten ergab, daß bei Traubenzuckeranwendung die plasmolysierten Zellen in den meisten Fällen noch eine deutliche Deplasmolyse zeigten, während nach halbstündiger Einwirkungsdauer von $CaCl_2$ nur bei wenigen Zellen noch eine Deplasmolyse zu erzielen war.

Um das Plasmolyticum nicht plötzlich, wie in der vorhergehenden Konzentrationsreihe, sondern kontinuierlich ansteigend einwirken zu lassen, wurde die Methode der Plasmolyse etwas abgeändert. Vor allem sollte ein eventuelles Abreißen der Strukturen beim zu raschen Herauslösen aus der Wand durch die vorher angewandte sprunghafte Konzentrationserhöhung vermieden werden. Zunächst wurde eine 1-molare Traubenzucker- (und Calciumchlorid-Lösung) hergestellt und in Büretten eingefüllt. Diese Lösungen ließ ich dann langsam in 2 Vorlagen tropfen, in denen sich die zu plasmolysierenden Stücke von *Cymbidium*

Tabelle 7. *Labellumhaare von Cymbidium Lowianum.*
Versuch vom 29. Mai 1953.

	Zeit des Eingriffes	Zahl der Außenwand-plasmodesmen
Kontrolle	18,15 Uhr fixiert	++++
Plasmolysiert (Traubenzucker)	18,15—20,15 Uhr	++
Deplasmolysiert	20,15—21,15 Uhr	+
Kontrolle	18,15 Uhr fixiert	++++
Plasmolysiert (Calciumchlorid)	18,15—19,15 Uhr	+
Deplasmolysiert	19,15—20,00 Uhr	–

befanden. Die Zuflußgeschwindigkeit der Plasmolytica war so eingestellt, daß bei Traubenzucker erst nach 2 Std eine 0,5-molare Lösung und bei Calciumchlorid nach 1 Std eine 0,3-molare Konzentration in der Vorlage erreicht wurde.

Auch bei dieser veränderten Versuchsanordnung (s. Tabelle 7) ergaben sich die gleichen Resultate wie in der Anordnung vom 2. April. Es ist also stets nach der Plasmolyse eine Abnahme der Außenwandplasmodesmen zu beobachten.

Bei Innenplasmodesmen machte bereits E. STRASBURGER (1901, S. 570ff.) die Beobachtung, daß sie nach einer Plasmolyse nicht mehr darstellbar waren. Dieses Verschwinden der Innenplasmodesmen aus der Wand im Verlaufe der Plasmolyse konnte durch eine spätere Deplasmolyse nicht mehr rückgängig gemacht werden. Daraus schloß STRASBURGER, daß die Innenplasmodesmen vom Protoplasten bei seiner Ablösung aus der Wand herausgezogen wurden.

Meine Versuche zeigen, daß auch die Außenwandplasmodesmen in ähnlicher Weise wie die Innenplasmodesmen äußerst labile Strukturen sein müssen. Aber der Plasmolyseeffekt dürfte kaum allein durch das Herausziehen aus der Wand zustande kommen, sondern zum Teil auch durch eine schwere, durch Zerreißung gesetzte Schädigung dieser Strukturen noch innerhalb der Wand, die ihre Darstellung beeinflußt. Mehrere Gründe machen dies wahrscheinlich.

Die Zahl der Außenwandplasmodesmen fällt, wie die Tabelle 6 und 7 zeigen, im Laufe der Plasmolyse sehr stark ab. Man sollte nun erwarten, daß nach der Deplasmolyse, wo der Protoplast sich wieder vollkommen der Wand anlegt, die Zahl der Außenwandplasmodesmen wenigstens gleichbleibt. Tatsächlich aber sinkt ihre Zahl weiterhin beträchtlich ab, ja sie wird bei Anwendung von $CaCl_2$ gleich Null. Da aber nach Aufhebung des plasmolytischen Zuges kein Grund mehr vorliegt, daß weitere Außenwandplasmodesmen aus der Wand herausgelöst werden, kann das völlige Verschwinden von Plasmodesmen nach der Deplasmolyse nur damit erklärt werden, daß die noch nicht herausgezogenen, aber durch das Abreißen vom Binnenplasma bereits irreversibel geschädigten Strukturen in der Wand nun endgültig absterben und damit nicht mehr sichtbar gemacht werden können.

Würde bei der Plasmolyse keine nachhaltige Schädigung des Protoplasten und der Plasmodesmen eintreten, dann kann man nicht einsehen, warum der deplasmolysierte Protoplast nicht mehr die Fähigkeit besitzen sollte, nach einiger Zeit aufs neue plasmatische Fäden in die leeren Wandkanäle zu entsenden, um so die lebendige Einheit aller Zellen untereinander wieder herzustellen. Einen Beweis dafür,

daß ein nicht zu stark geschädigter Protoplast wenigstens bei den Außenwänden sehr wohl dazu in der Lage ist, sehe ich in den S. 174 beschriebenen reversiblen Vergilbungsversuchen mit *Passiflora edulis*.

Die zuerst plasmolysierten und dann fixierten Zellen unterscheiden sich gegenüber den nicht plasmolysierten Zellen deutlich. Die ersteren zeigen, wie gesagt, nur wenige oder gar keine Außenwandplasmodesmen

Abb. 25. *Cymbidium Lowianum*. Papille vom Labellum. Ohne Plasmolyse fixiertes Objekt. Der kontrahierte Protoplast hängt an 2 Stellen noch mit der Außenwandstruktur zusammen. Diese Außenwandstruktur besteht aus mehreren, hier nicht einzeln sichtbaren, dicht beieinander liegenden Fäden. Mikrophoto Leitz Mikas 1/3, Objektiv 45mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 4mal, Gesamtvergrößerung 600mal.

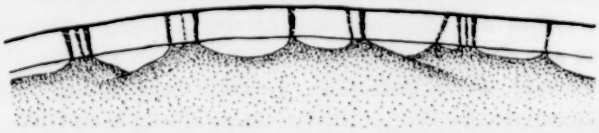


Abb. 26. *Cymbidium Lowianum*. Fixierte Haarzelle vom Labellum. Etwas schematisiert gezeichnet bei Beobachtung mit Wasserimmersion 90mal und Binokularen 15mal.

und der Protoplast liegt, von der Wand abgelöst, fast immer völlig abgerundet mitten im Zellumen. Dagegen weisen die nur fixierten Zellen meist sehr viele Außenwandplasmodesmen auf, wenn auch ihre Protoplasten gewöhnlich unter der Einwirkung des Fixierungsmittels deutlich Formen der Krampfplasmolyse zeigen. Besonders an der Stelle, an welcher der Protoplast die Zellwand noch berührt, zeigen sich immer Außenwandplasmodesmen, die ihn im Zellraum verankern. Die beigefügten Mikrophotos (Abb. 25, 27) bieten dafür einige Beispiele. In vielen Fällen ließen sich auch ganz einwandfrei längere feine Fäden beobachten, die den von der Zellwand sonst losgelösten Protoplasten mit den Außenwandplasmodesmen verbanden. Jedoch war mir ein mikrophotographisches Festhalten kaum möglich, da diese Fäden in

ihrer Gesamtlänge nie in einer Schärfeebene lagen. Es ist durchaus wahrscheinlich, daß diese Fäden mit den HECHTschen Fäden identisch sind.

Die Gesamtheit meiner plasmolytischen Studien läßt jedenfalls kaum einen anderen Schluß zu als den, daß normalerweise zwischen

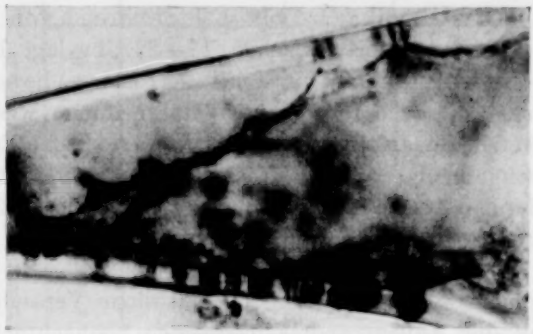


Abb. 27. *Cymbidium Lowianum.* Fixierte Haarzelle vom Labellum. Mikrophoto mit Leitz Mikas 1/3, Objektiv 45mal, Okular 10mal, Nachvergrößerung 3mal, Gesamtvergrößerung 450mal. Nur fixiertes Objekt.

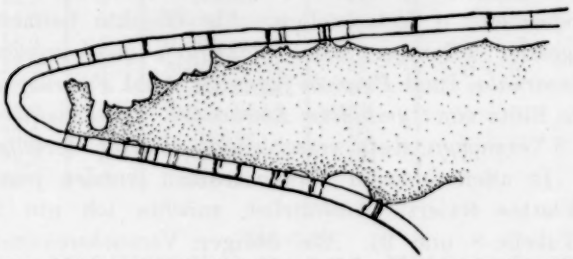


Abb. 27a. Zeichnung nach Abb. 27 bei etwas schwächerer Vergrößerung.

dem Binnenplasma und den Wandstrukturen eine unmittelbare Verbindung besteht, d. h. *daß diese Wandstrukturen nichts anderes sind als feine Ausstülpungen des Protoplasmas.*

3. Der tagesperiodische Rhythmus im Auftreten der Außenwandplasmodesmen.

Im ersten Jahre meiner Untersuchungen der Außenwandplasmodesmen gelang es mir nie, diese regelmäßig und mit unbedingter Sicherheit zu beobachten. Die schon früher erwähnte „Launenhaftigkeit" der Objekte störte ungemein, erforderte aber gerade deshalb eine eingehende Untersuchung. Als ich nach einem Jahre (29. 3. 50 bis 10. 3. 51) genügend Versuchsresultate besaß und in einer Übersicht alle Anfangszeiten der Fixierungen zusammenstellte, fiel mir auf, daß Außenwandplasmodesmen fast niemals zu beobachten waren, wenn ich in der Zeit zwischen

9,00—14,00 Uhr das Versuchsmaterial in das Fixiergemisch einbrachte. Wurde dagegen das Material später, vor allem nach 17,00 Uhr fixiert, dann waren in fast allen Fällen zahlreiche Plasmodesmen festzustellen. Als Versuchsmaterial benutzte ich damals die Blätter von *Passiflora incarnata* und *Passiflora coerulea*. So ergaben von 31 Versuchsreihen, die zwischen 8—15 Uhr fixiert wurden, 26 das Resultat + bzw. —, und nur 5 erhielten das Prädikat + bis ++, während von 34 Versuchsreihen, deren Fixierungszeit zwischen 17—22 Uhr lag, 14 mit ++, 15 mit +++ bis ++++ und nur 4 mit + (1 mit —) bewertet wurden. Diese Ergebnisse, die auch im folgenden Jahre immer wieder bestätigt wurden, legten den Gedanken nahe, daß tagesperiodische Erscheinungen an der wechselnden und launenhaften Reproduzierbarkeit der Außenwandplasmodesmen beteiligt sein könnten. Im Juni 1952 begann ich daher mit der genaueren Untersuchung der tageszeitlichen Schwankung im Auftreten von Außenplasmodesmen.

In 23 Versuchsreihen wurde die tageszeitliche Veränderung in der Darstellbarkeit der Außenwandplasmodesmen beobachtet. Bei 7 Versuchsreihen wurden während 24 Std jede Stunde Teile des Versuchsmaterials fixiert, um die genaue Zeit des Maximums und des Minimums der Plasmodesmenzahl festzustellen. Als Objekte benutzte ich die Blätter folgender Pflanzen: 3mal *Passiflora quadrangularis*, 14mal *Passiflora incarnata*, 1mal *Primula japonica*, 4mal *Primula pulverulenta* und 1mal die Blüte von *Cymbidium Lowianum*. Bei *Passiflora incarnata* wurden in 5 Versuchen stets verschiedene Blätter derselben Pflanze genommen. In allen anderen Versuchsreihen wurden jeweils Stücke desselben Blattes fixiert. Ausführlich möchte ich nur 2 Tabellen anführen (Tabelle 8 und 9). Alle übrigen Versuchsresultate sind in Tabelle 10 summarisch zusammengefaßt, in der nur die Zeiten des Zahlenmaximums und des Zahlenminimums aufgeführt werden.

Auf Grund hier niedergelegter Resultate kann man wohl mit Recht von einem tagesperiodischen Rhythmus im Auftreten und Verschwinden der Außenwandplasmodesmen sprechen. Zwar wurde diese eigentümliche Erscheinung bisher eingehend vor allem an *Passiflora incarnata* untersucht, aber auch bei den übrigen stichprobenartig untersuchten Objekten zeigt sich die grundsätzliche Übereinstimmung der Versuchsergebnisse mit den bei *Passiflora incarnata* gefundenen Resultaten. Um die Allgemeingültigkeit dieses Phänomens noch zu festigen, müßten allerdings die Untersuchungen noch auf einen größeren Pflanzenkreis ausgedehnt werden und sich gleichzeitig auch über mehrere Vegetationsperioden erstrecken. Jedoch scheinen die Ergebnisse des genau untersuchten Objekts schon genügend gesichert zu sein, um daraus die entsprechenden Folgerungen abzuleiten.

Tabelle 8.

Versuch vom 23. Juni 1952. Versuchsmaterial: Blätter von *Passiflora incarnata*, und zwar jeweils das 5.—8. Blatt vom Vegetationspunkt an gerechnet. Die Pflanze wurde im Gewächshaus des Botanischen Gartens gezogen.

Fixierbeginn	Temperatur °C	Blatt	Lichtverhältnisse	Fixierdauer Std	Anzahl der Außenwandplasmodesmen Oberseite	Unterseite
11 Uhr	23,5	6	Sonne	11	±	+
12 Uhr	23,0	6	Sonne	10	–	±
13 Uhr	25,7	5	Sonne	10	+	+
14 Uhr	27,5	6	Sonne	11	+	+
15 Uhr	23,5	5	Sonne	11	+++	++
16 Uhr	22,5	6	Schatten	11	+++	+++
17 Uhr	21,8	5	Sonne	11	+++	+++
18 Uhr	21,5	6	Sonne	11	++	+++
19 Uhr	21,5	5	Sonne	11	+++	++++
20 Uhr	18,0	5	Dämmerung	12	++	++
21 Uhr	16,0	6	Dämmerung	12	++++	+++
22 Uhr	15,5	6	Nacht	12	++++	+++
23 Uhr	14,5	5	Nacht	12	++++	+++
24 Uhr	13,8	7	Nacht	11	++++	+++
1 Uhr	13,0	7	Nacht	12	++++	++++
2 Uhr	13,0	5	Nacht	11	++++	+++
3 Uhr	14,0	7	Dämmerung	10	+++	+++
4 Uhr	15,0	5	Dämmerung	12	++++	+++
5 Uhr	15,0	7	helles Licht	11	+++	++
6 Uhr	15,5	7	helles Licht	10	++	+
7 Uhr	16,0	5	helles Licht	11	+++	++
8 Uhr	17,5	7	Sonne	10	+++	++
9 Uhr	18,2	8	bewölkt	11	++	++
10 Uhr	20,0	6	bewölkt	10	+	++

Tabelle 9.

Versuch vom 15. Juli 1952. Versuchsmaterial: Blätter von *Passiflora quadrangularis*. Fixiert wurden die Blattstücke desselben Blattes. Die Pflanze wurde im Gewächshaus des Botanischen Gartens gezogen.

Fixierbeginn	Temperatur °C	Lichtverhältnisse	Anzahl der Außenwandplasmodesmen	Fixierbeginn	Temperatur °C	Lichtverhältnisse	Anzahl der Außenwandplasmodesmen
9 Uhr	21,0	bewölkt	++	21 Uhr	17,5	Dämmerung	+++
10 Uhr	23,0	sonnig	+	22 Uhr	17,0	Nacht	+++
11 Uhr	25,0	bewölkt	+	23 Uhr	15,5	Nacht	+++
12 Uhr	23,0	bewölkt	±	24 Uhr	15,0	Nacht	+++
13 Uhr	22,8	sonnig	–	1 Uhr	14,0	Nacht	++++
14 Uhr	22,0	bewölkt	–	2 Uhr	14,0	Nacht	++++
15 Uhr	22,5	bewölkt	±	3 Uhr	14,0	Nacht	+++
16 Uhr	23,5	sonnig	±	4 Uhr	15,0	Dämmerung	+++
17 Uhr	23,5	sonnig	+	5 Uhr	15,2	helles Licht	+
18 Uhr	23,0	sonnig	++	6 Uhr	15,5	helles Licht	±
19 Uhr	22,5	sonnig	++	7 Uhr	17,5	sonnig	+
20 Uhr	19,0	bewölkt	++	8 Uhr	19,7	sonnig	+

Tabelle 10. *Tagesrhythmisches Auftreten der Außenwandplasmodesmen an verschiedenen Pflanzen.*

Zeit	*Passiflora incarnata*						
	Versuche vom						
	30. 6. 52	3. 7. 52	21. 5. 53	22. 7. 53	31. 7. 53	18. 8. 53	12. 9. 53
9—14 Uhr	±	±	−	±	−	+	−
20—24 Uhr	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++

Zeit	*Primula pulverulenta*			*Primula japonica*
	Versuche vom			Versuch vom 31. 7. 53
	18. 8. 53	21. 8. 53	12. 9. 53	
9—14 Uhr	+	±	±	±
20—24 Uhr	+++	++	++++	++++

Zeit	*Cymbidium Lowianum*	*Symphytum officinale*
	Versuch vom 19. 3. 53	Versuch vom 21. 8. 53
9—14 Uhr	+	±
20—24 Uhr	++++	++

4. Der Einfluß von Licht und Wärme auf den tagesperiodischen Rhythmus der Außenwandplasmodesmen.

Bei den vorstehend geschilderten Untersuchungen des tageszeitlichen Rhythmus im Sommer 1952 fiel mir auf, daß ich gelegentlich auch bei vollgrünen Pflanzen, die ich abends fixierte, nur wenige oder sogar keine Außenwandplasmodesmen feststellen konnte. Es mußte hier also noch ein weiterer Faktor wirksam sein, der bis dahin nicht beachtet worden war. Als dann der Spätsommer 1952 ein verhältnismäßig kühles und sonnenloses Wetter brachte, gelang mir längere Zeit sowohl bei Tag wie bei Nacht die Darstellung von Außenwandplasmodesmen überhaupt nur noch in ganz seltenen Fällen. Ebenso war das Herbst- und Winterwetter ziemlich kühl und sonnenlos und auch hier waren meine Ergebnisse recht unbefriedigend. Dagegen wiesen die Wettertabellen des vorangegangenen Herbstes und Winters 1951, wo meine Untersuchungsresultate fast immer positiv ausgefallen waren, viele sonnige Tage auf. Für die positiven oder negativen Versuchsergebnisse mußte also in irgendeiner Weise die Wetterlage, insbesondere wohl die Licht- bzw. Wärmeverhältnisse von entscheidendem Einfluß sein. In vielen Einzelversuchen des Sommers 1953 konnte diese Vermutung dadurch bestätigt werden, daß sich nach dem Einbruch einer Schlechtwetterperiode mit kühlen und sonnenlosen Tagen tatsächlich in den meisten Fällen auch in den späten Abendstunden nur wenige oder gar keine Außenwandplasmodesmen mehr beobachten ließen.

An einem Beispiel soll dieser Effekt für die stets um 19 Uhr fixierten Blätter von *Primula japonica* gezeigt werden. Der in Abb. 28 dargestellte Vergleich mit der Temperatur und der Sonnenscheindauer in dem Zeitabschnitt vom 20. 5. bis 12. 6. 53 zeigt wohl deutlich genug die Abhängigkeit der Außenwandplasmodesmen von diesen beiden Faktoren.

Auch einige weitere Reihenversuche dienten dazu, diesen eigentümlichen Einfluß der Wetterlage auch auf den tagesperiodischen Rhythmus sicherzustellen. Dabei wurden als Versuchsmaterial in 5 Versuchen die Blätter von *Passiflora incarnata* und in 2 Versuchen die Blätter von

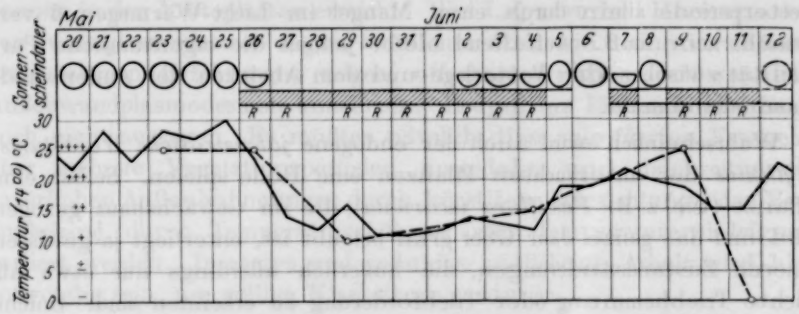


Abb. 28. *Primula japonica.* Der Einfluß von Licht und Wärme auf die Zahl der Außenwandplasmodesmen. Ausgezogene Kurve = Temperaturverlauf; gestrichelte Kurve = Anzahl der Außenwandplasmodesmen.

= wolkenlos; = teilweise sonnig; = aufgelockerte Bewölkung; = stark bewölkt; *R* = Regen.

Primula pulverulenta benutzt. Soweit dies überhaupt möglich ist, wurde genau darauf geachtet, daß die Blätter keinerlei Vergilbungserscheinungen aufwiesen. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 11 zusammengefaßt.

Ob die Abnahme der Temperatur und der Sonnenscheindauer unmittelbar auf die Außenwandstrukturen wirkt und diese sich einfach

Tabelle 11.

Objekt	Datum	Anzahl der Außenwandplasmodesmen um 9 Uhr	12 Uhr	15 Uhr	18 Uhr	22—24 Uhr	
Primula pulverulenta	6. 10. 53	−	−	±	±	+	Regen
	15. 10. 53	±	−	−	+	+	Regen
Passiflora incarnata	30. 9. 53	++	±	±	+	++	Sonne
	6. 10. 53	±	−	−	±	+	Regen
	12. 10. 53					+++	Sonne
	15. 10. 53	+	−	±	±	±	Regen
	19. 10. 53	−	−	−	−	±	Regen
	6. 11. 53	+	±	±	+	++	bewölkt
	12. 11. 53	±	−	+	++	+++	Sonne

in den Protoplasten zurückziehen, oder ob sie mittelbar das Verschwinden der Strukturen beeinflußt, d. h. durch vielleicht einsetzende allgemeinere Abbauerscheinungen innerhalb der gesamten Protoplasten, kann nicht gesagt werden. Zweifellos spielt auch eine spezifische Empfindlichkeit und Reaktionsbereitschaft eine Rolle. So scheint z. B. *Passiflora alba* wesentlich reaktionsträger als *Passiflora incarnata* zu sein.

Aus diesen hier mitgeteilten relativ wenigen Versuchsresultaten ergibt sich natürlich noch kein ganz zwingender Schluß, daß das Verschwinden der Außenwandplasmodesmen während einer Schlechtwetterperiode allein durch einen Mangel im Licht-Wärmegenuß verursacht sein muß. Auffallend bleibt jedoch die eigentümliche Parallelität zwischen der Wetterlage und dem Absinken der Außenwandplasmodesmenzahl.

Wahrscheinlich wird auch der endogene *jahreszeitliche Wachstumsrhythmus* der untersuchten Pflanzen eine Rolle spielen. Selbst eine Pflanze (wie z. B. *Passiflora incarnata*), die im Gewächshaus gezogen wird und das ganze Jahr über grün belaubt ist, unterliegt ja gewissen inneren Zustandsänderungen, die äußerlich allerdings nur etwa als leichte Triebhemmung oder Triebförderung zu erkennen sind. Solche jahreszeitlich bedingte Wachstumsschwankungen dürften aber nach meinen Beobachtungen ebenfalls den tageszeitlichen Rhythmus und die Einwirkung des Lichtes und der Wärme variieren. Ob außerdem noch weitere Faktoren von Einfluß sind, kann zur Zeit noch nicht gesagt werden. Auf jeden Fall ist das Zusammenspiel der einzelnen Faktoren kompliziert und oft völlig undurchschaubar.

Einen Hinweis auf ähnliche Schwierigkeiten scheint mir bezüglich der Innenplasmodesmen bereits R. LAUBERT (1897, S. 20) ausgesprochen zu haben, wenn er schreibt: „Bei wieder anderen Pflanzen läßt sich an dünnen Schnitten gar nichts finden, während gerade an etwas dickeren Stellen der Schnitte Plasmafäden sichtbar werden... Wenn man ferner bedenkt, daß meist nur sehr vereinzelte Stellen der Schnitte gute Bilder geben, während andere, unter ganz denselben Verhältnissen sich befindend, gar nichts zeigen, so leuchtet ein, daß man es zum Teil auch als bloße Glückssache bezeichnen kann, wenn man von zahlreichen, scheinbar geeigneten Schnitten nur hier und da eine vereinzelte Stelle findet, wo sich Plasmafäden in einer, wenn auch nur einigermaßen deutlichen Weise erkennen lassen. Und als Anmerkung fügt er dann hinzu (von mir hervorgehoben): „... *Vielleicht spielt auch die Jahreszeit, die betreffende augenblickliche Lebenstätigkeit der Zelle eine Rolle.*"

Gerade der letzte Hinweis zeigt, daß die Darstellungsmöglichkeit der Plasmodesmen allgemein nicht bloß eine Sache der richtigen Methode ist, wie so viele Untersucher, die mit ähnlichen Schwierigkeiten kämpften, zunächst angenommen haben; vielmehr hängt die Darstellungsmöglichkeit auch wesentlich davon ab, welche Zustands- und Umweltsbedingungen bei Fixierbeginn herrschten. Diese können tatsächlich

so sein, daß die Beobachtung von Plasmodesmen, wie R. LAUBERT schreibt, zur Glückssache wird.

Einen Hinweis aus neuerer Zeit für das Verschwinden von Innenplasmodesmen bei Kälteeinwirkung gibt auch eine Bemerkung von P. A. HENCKEL (1950) auf dem internationalen Botanikerkongreß zu Stockholm. In seinem Referat „The adaptive significance of dormancy in plants" betont er, daß die Isolation der Protoplasten ein Wesensmerkmal der beginnenden Winterruhe ist. Diese Isolation der Protoplasten wird nach HENCKEL aber durch das Einziehen der Innenplasmodesmen in den Protoplasten erreicht. Was LAUBERT und HENCKEL von den Innenplasmodesmen sagen, kann man aber, wie meine vorstehend beschriebenen Erfahrungen zeigen, offenbar zwanglos auch von den Außenwandplasmodesmen annehmen. Endgültiges läßt sich allerdings noch nicht aussagen. Es müßten nämlich diese angeführten Versuche über mehrere Vegetationsperioden ausgedehnt und gleichzeitig die natürlichen Außenbedingungen durch künstliche Beleuchtung oder Verdunkelung, durch Temperaturerhöhung oder Temperaturerniedrigung variiert werden. Intensive und geduldige vieljährige Arbeit wird hier notwendig sein, um völlige Klarheit zu gewinnen.

IV. Diskussion der Ergebnisse.

Aus den vorstehenden Untersuchungen geht hervor, daß es mit einer geeigneten Sublimatfixierung gelingt, in den Außenwänden zahlreicher angiospermer Pflanzen die von SCHUMACHER & HALBSGUTH (1939) zuerst entdeckten plasmodesmenartigen Strukturen nachzuweisen. Sofern diese Außenwände nicht cutinisiert sind, zeigen mit Ausnahme der Wurzeln alle Organe einer höheren Pflanze, am besten die Laubblätter, aber auch Blütenblätter, Haare, Nektarien, junge Sproßachsen usw. diese Strukturen oft in erstaunlich großer Dichte. Die bisherige „Launenhaftigkeit" des Nachweises aber, die übrigens auch für die Innenplasmodesmen gilt, hat eine überraschende Aufklärung gefunden: Sie liegt nicht so sehr, wie bisher manchmal vermutet wurde, in der ungenügenden Darstellungsmethode, sondern in den Lebensäußerungen der Objekte selbst begründet! Denn es kann kaum mehr einen Zweifel darüber geben, daß es sich bei den beobachteten Erscheinungen nicht um starre Wandstrukturen handelt, sondern um etwas, das zum mindesten aufs engste mit der Lebenstätigkeit des Protoplasmas zusammenhängen muß. Die schon von SCHUMACHER gemachte und von mir neu bestätigte Beobachtung, daß Schnittverletzungen der Zellen die Plasmodesmen zum Verschwinden bringen, ganz besonders aber der Nachweis eines tagesperiodischen Auftretens und Wiederverschwindens zeigt eine Labilität der beobachteten Strukturen, die nur in engster Verbindung

mit dem Lebendigen selbst, d. h. dem Protoplasten und seinen Lebensäußerungen, verständlich erscheint. Dasselbe gilt offenbar auch für die Beeinflußbarkeit durch den Licht-Wärmegenuß und die Jahresperiodizität, selbst wenn für diese Erscheinungen das bisher erarbeitete Tatsachenmaterial noch relativ gering ist und weiterer langjähriger Beobachtungen und Festigung bedarf. Der völlige Schwund beim Vergilben der Laubblätter endlich zeigt einen Abbau, wie wir ihn ebenfalls gerade bei diesen Vorgängen nur für lebenswichtige Elemente, nicht aber für starre Wandstrukturen kennen.

Hiermit dürften aber die Grundlagen so weit verbreitert sein, daß eine klare Beantwortung der von SCHUMACHER noch mit einem gewissen Zögern aufgeworfenen Fragen nach der eigentlichen Natur der beobachteten Strukturen möglich erscheint. *Ich bin auf Grund meiner 4jährigen Studien dieses Problems zu der Überzeugung gelangt, daß es sich tatsächlich um plasmatische Gebilde in der Zellwand, also um völlige Homologe der bisher allein bekannten Innenplasmodesmen, handeln muß.* Angesichts der Tragweite dieser Behauptung ist natürlich eine sorgfältige Abwägung der Gründe und Gegengründe erforderlich.

Fragen wir zunächst, was *gegen* unsere Annahme spricht, so ist es zuerst vielleicht eine nomenklatorische und begriffliche Schwierigkeit, die schon JUNGERS und MÜHLDORF zu einer Ablehnung veranlaßte. Der Name „Plasmodesmen" wurde ja ursprünglich von E. STRASBURGER für die feinen plasmatischen Verbindungsfäden geprägt, die zwei benachbarte Protoplasten durch die Zellwände hindurch zu einer lebendigen Einheit verbinden. STRASBURGER selber neigte jedoch bekanntlich zu der Annahme, daß die Plasmodesmen als cilienartige Gebilde entstünden und sich in der Mittellamelle berührten (1901, S. 522). Der später, zuletzt noch von MÜHLDORF geführte Nachweis, daß die fertigen Plasmodesmen kontinuierliche Plasmabrücken sind, die 2 Protoplasten ohne Unterbrechung verbinden, beweist nichts über ihre Entstehung, die ja bis heute noch ungeklärt ist. Da aber vieles dafür spricht, daß sie tatsächlich neu entstehen können, kommt man um die Vorstellung nicht herum, daß der Protoplast in der Lage sein muß, feinste fadenartige Fortsätze in die Wand zu entsenden, die zunächst, bis zu ihrer Berührung und Verschmelzung mit entsprechenden Bildungen des Nachbarprotoplasten, völlig dem Bilde entsprechen, welches auch unsere Außenwandstrukturen zeigen. Nur daß letztere eben nicht in Kommunikation mit dem Nachbarprotoplasten treten, sondern die Zelle durch die starre Außenwand hindurch mit der Außenwelt verbinden, so wie man das auch bei Intercellularen im Innern des Gewebes beobachten kann. Unter diesen Gesichtspunkten sehe ich also, wie schon SCHUMACHER, keinen Grund, für die Außenwandstrukturen etwa einen neuen Namen zu prägen, sondern habe in der vorliegenden Arbeit auch für sie den alten

Sammelnamen der Plasmodesmen als durchaus sinnvoll beibehalten. Wie weit die Homologie tatsächlich geht, wird gleich noch zu erörtern sein.

Ein zweiter Einwand, der gegen die plasmatische Natur der Außenwandplasmodesmen erhoben werden könnte, liegt in der Schwierigkeit der Darstellung dieser Gebilde. Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführte eingehende methodische Nachprüfung hat ja ergeben, daß im allgemeinen nur eine Hg(II)-Fixierung in der Lage ist, die Außenwandplasmodesmen sichtbar werden zu lassen. Zweifellos lassen sie sich also schwieriger darstellen als die Innenplasmodesmen, die ja zum Teil bereits nach einer Osmiumfixierung sichtbar werden. Ich vermag darin jedoch kein Argument gegen die plasmatische Natur der Außenwandplasmodesmen zu erblicken. Es ist nur natürlich, daß kontinuierliche Verbindungsfäden zwischen 2 Nachbarprotoplasten robuster und auch gegen Fixierungsmittel widerstandsfähiger sind als die isolierten, sensiblen, nach der Außenwelt vorgestreckten plasmatischen Fortsätze, die, wie meine Untersuchungen ergeben haben, ohnehin leicht periodisch zurückgezogen und wieder ausgestreckt werden. Warum gerade Hg(II)-Salze, die dabei offenbar reduziert werden müssen, so besonders geeignet sind, die Strukturen zu erhalten, kann nicht gesagt werden. Vielleicht spielen Lipoide und Phosphatide in ihrer Oberfläche im Sinne der Erfahrungen von Weis (1926) über die Konstitution der Hechtschen Fäden eine besondere Rolle. Auch könnten sehr wohl qualitative Unterschiede dieses „Außenplasmas" wie auch der Außenwand selbst von Bedeutung sein, zumal die Quellung dieser Außenwand für die Darstellung sicher von entscheidender Wichtigkeit ist.

Schließlich ist es wahrscheinlich die Neuartigkeit des ganzen Bildes, das sich nunmehr von der morphologischen Gestalt des Protoplasten und der cellulären Struktur mit allen physiologischen Konsequenzen ergeben muß, und das wohl manchen zögern lassen mag, die plasmatische Realität der Strukturen anzuerkennen. Daß sie nicht das geringste mit den von Meeuse (1941) beobachteten Artefakten zu tun haben, hat bereits Schumacher (1942) betont. Auch die von Kisser und Jünger (1952) jüngst beschriebenen Druck- und Schneidelinien können von keinem, der aufmerksam unsere Bilder betrachtet oder sich die nach unserem Verfahren sichtbar gemachten Strukturen am Objekt selber ansieht, überhaupt verwechselt werden. Dennoch könnte es sich aber insofern noch um Artefakte handeln, als durch die Sublimatfixierung irgendwelche *tote* Substanzen in der Wand niedergeschlagen werden, die selber kein Plasma zu sein brauchten. Hiermit berühren wir aber nunmehr die in dieser Arbeit gewonnenen neuen Unterlagen, die tatsächlich für eine echte plasmatische Natur unserer Strukturen sprechen.

Es ist nämlich sehr schwer vorstellbar, daß Exkretionen und Ablagerungen toter organischer Substanzen in der Zellwand — die faden-

förmige Gestalt derselben würde ohnehin eine ganz lokalisierte Ausscheidung erfordern — nicht nur tagesperiodisch gebildet, sondern auch wieder resorbiert werden sollten. Gerade das letztere erscheint mir allen bisherigen Erfahrungen über echte pflanzliche Exkrete zu widersprechen. Der mir einzig bekannte Fall des tagesperiodisch wechselnden Carbonatgehaltes in Cystolithen (RABIGER 1951) zeigt nur, daß $CaCO_3$ in diesem Fall kein echtes Exkret ist. Dasselbe gilt für die jahresperiodische Abhängigkeit und den Einfluß von Licht und Wärme. Diese Beobachtungen scheinen mir jedenfalls unter allen Umständen auf einen engen Zusammenhang mit der Lebenstätigkeit des Protoplasten zu deuten. Sie erfahren auch dadurch eine volle Bestätigung, daß sie bei eigentlichen Abbauvorgängen desselben, wie sie sich beim Vergilben abspielen, verschwinden. Wie eng diese Strukturen hierbei mit der Aktivität des lebenstätigen Protoplasmas zusammenhängen, zeigte sich in besonderem Maße beim Wiederergrünen eines künstlich angegilbten Blattes von *Passiflora edulis* (vgl. S. 174), wo die vorher verschwundenen Strukturen zugleich mit dem Ergrünen wieder erschienen.

Im übrigen ist der unmittelbare morphologische Zusammenhang zwischen Binnenplasma und Außenwandstrukturen nicht nur stoffwechselphysiologisch zu erschließen, sondern auch direkt anatomisch nachzuweisen. Vor allem die Studien über die Folgen der Plasmolyse zeigen, daß das Binnenplasma sich unmittelbar in die fadenförmigen Wandstrukturen fortsetzt. Zwar reißen die Außenwandplasmodesmen vielfach bei der Präparation von Binnenplasma ab, so wie es auch bei den Innenplasmodesmen zu beobachten ist; dennoch aber bleibt der Zusammenhang zwischen Binnenplasma und Außenwandstrukturen in zahlreichen Fällen deutlich genug sichtbar erhalten. Wer im übrigen die gar nicht seltenen Fälle kennt, wo regelrechte Tüpfel aus dem Zellumen in Epidermisaußenwände hineinführen (Blätter von Gramineen, Coniferen, Cycadeen u. a.), wird ohnehin geneigt sein, in diesen ohne weiteres sichtbaren Strukturen nur stark vergröberte Abbilder eines Prinzips zu erkennen, daß in der Form der so lange unsichtbar gebliebenen Außenwandplasmodesmen offenbar sehr weit verbreitet, wenn nicht allgemeingültig ist.

Aber auch in ihrem ganzen sonstigen Habitus gleichen die Außenwandstrukturen so weitgehend den Strukturen der Innenplasmodesmen einschließlich der gegen die Intercellularen ausgebildeten Erscheinungen, daß man auch für die Außenwandstrukturen die plasmatische Natur fordern muß, wenn man überhaupt von der plasmatischen Natur der Innenplasmodesmen überzeugt ist. Daß auch Innenplasmodesmen labil sind und zeitweilig verschwinden können, ist bereits früher von LAUBERT und STRASBURGER, und in jüngster Zeit von HENCKEL angegeben worden.

Weitere mikrochemische Beweise für die Plasmanatur sind mir bisher nicht gelungen. Sowohl der Versuch eines fermentativen Abbaus (Papain, Pepsin) wie auch der von MÜHLDORF empfohlene Oxydasenachweis (Nadireaktion) scheiterte bei meinen Objekten bezeichnenderweise in gleichem Maße an Außenwand- wie Innenplasmodesmen. Ich muß jedoch betonen, daß ich solchen Reaktionen ohnehin sehr viel weniger Bedeutung zumessen möchte als den vorstehend beschriebenen vitalen Beobachtungen über die periodische Veränderlichkeit und Labilität.

Aussichtsreicher scheinen mir vielleicht elektronenoptische Versuche zum Nachweis eventueller Poren in der Epidermisaußenwand, wie sie für Innenplasmodesmen bereits mehrfach gelungen sind. Bei der Feinheit der plasmatischen Tentakel und dem lockeren Bau der Zellwände ist allerdings ein negatives Ergebnis kein unbedingter Gegenbeweis. Auch die Beobachtungen über die Periodizität müssen noch weiter ausgedehnt werden. Doch möchte ich glauben, daß die bis jetzt von mir erarbeiteten Tatsachen und Überlegungen schon genügen, um die neue Vorstellung von der Morphologie des Protoplasten und seiner innigen Durchdringung der Zellwände so weit zu sichern, daß sowohl die Stoffwechselphysiologie als auch die Wachstums- und Reizphysiologie künftighin mit ihr rechnen müssen.

V. Zusammenfassung der Ergebnisse.

In mehrjähriger Arbeit gelang es, mit einer verbesserten Methodik das von SCHUMACHER & HALBSGUTH (1939) entdeckte Vorkommen von plasmodesmenartigen Strukturen in Epidermisaußenwänden bei einer großen Anzahl Pflanzen verschiedenster systematischer Stellung nachzuweisen und Beweise für ihre plasmatische Natur zu finden. Der Protoplast liegt nicht, wie bisher allgemein angenommen wurde, der Außenwand in einer glatten tapetenartigen Schicht an, sondern durchdringt die Wand mindestens zeitweilig rhizopodenartig mit zahlreichen feinsten plasmodesmenartigen Fortsätzen, die direkt unter der Cuticula zu enden scheinen. Diese plasmatischen Tentakel, die zu mehreren Tausend die Außenwand einer einzigen Zelle durchsetzen können, werden in einem offenbar tagesperiodischen Rhythmus mit einem Maximum in den Nachtstunden ausgestreckt und wieder zurückgezogen. Auch die Wetterlage und sonstige Außen- und Innenfaktoren scheinen auf ihre Ausbildung von Einfluß zu sein. Beim Vergilben der Laubblätter verschwinden die Gebilde völlig aus der Wand, bei Plasmolyse werden sie herausgezogen bzw. abgerissen. Im übrigen gleichen sie in Gestalt und färberischem Verhalten weitgehend den bisher allein bekannten Innenplasmodesmen zwischen den Zellen. Ebenso scheinen sie den von

JUNGERS beobachteten, nach den Intercellularen führenden Strukturen völlig homolog zu sein.

Diese neuen Befunde über die Morphologie des Protoplasten in pflanzlichen Epidermiszellen müssen für viele Fragen der Stoffaufnahme und Abgabe, der cuticulären Transpiration, der Wachstums- und Reizphysiologie von Bedeutung sein.

Literatur.

BENNET, C. W.: Studies of dodder transmission of plant viruses. Phytopathology **34**, 905—932 (1944). — GARDINER, W.: On the continuity of the protoplasm through the walls of vegetable cells. Arb. Würzburger bot. Inst. **3**, 52—87 (1888). — The histology of the cell wall with special reference to the mode of connexion of cells. Proc. Roy. Soc. Lond. **62**, 100—112 (1898). — HENCKEL, P. A.: The adaptive significance of dormancy in plants. Referat auf dem internat. Bot. Kongr. Stockholm 1950. — JUNGERS, V.: Recherches sur les plasmodesmes chez les végétaux. I. Cellule **40**, 7—82 (1930). — KISSER, J., u. E. JÜNGER: Mikroskopische Zellwanddeformierungen von Holzelementen bei der Schnittanfertigung. Mikroskopie (Wien) **7**, 272—283 (1952). LAUBERT, R.: Untersuchungen von pflanzlichen Zellmembranen auf eine Durchlöcherung mittels Protoplasma einschließlich einiger Untersuchungen strittiger Fälle über den Nachweis von Protoplasmaverbindungen. Diss. Göttingen 1897. — MEEUSE, A. D. J.: On the nature of plasmodesmata. Protoplasma (Wien) **35**, 143—151 (1941). — Einige Bemerkungen zu R. SCHAEDES Mitteilung über den Feinbau von Parenchymmembranen. Ber. dtsch. bot. Ges. **59**, 122—135 (1941). — MEYER, A.: Über die Methoden zur Nachweisung der Plasmaverbindungen. Ber. dtsch. bot. Ges. **15**, 166—177 (1897). — MÜHLDORF, A.: Das plasmatische Wesen der pflanzlichen Zellbrücken. Beih. bot. Cbl. **56** 171 bis 364 (1937). — RABIGER, F. H.: Untersuchungen an einigen Acanthaceen und Urticaceen zur Funktion der Cystolithen. Planta (Berl.) **40**, 121—144 (1951). — SCHUMACHER, W.: Untersuchungen über die Wanderung des Fluoresceins in den Haaren von *Cucurbita Pepo*. Jb.wiss. Bot. **82**, 507—533 (1936). — Über plasmodesmenartige Strukturen in den Epidermisaußenwänden. Jb. wiss. Bot. **90**, 530—545 (1942). — SCHUMACHER, W., u. W. HALBSGUTH: Über den Anschluß einiger höheren Parasiten an die Siebröhren der Wirtspflanzen. Jb. wiss. Bot. **87**, 324—355 (1939). — STRASBURGER, E.: Über Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. Jb. wiss. Bot. **36**, 493—610 (1901). — ULLRICH, H.: Einige Beobachtungen über Doppelbrechung am lebenden Protoplasten, an verschiedenen Zellorganellen sowie der Zellwand. Planta (Berl.) **26**, 311—318 (1936). — VOLZ, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Porengröße pflanzlicher Zellwände. Mikroskopie (Wien) **7**, 251—266 (1952). — WEIS, A.: Beiträge zur Kenntnis der Plasmahaut. Planta (Berl.) **1**, 145—186 (1926).

Dr. PETER LAMBERTZ, Bonn a. Rh., Botanisches Institut der Universität, Meckenheimer Allee 170.

Planta, Bd. 44, S. 191—202 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DIE URSACHE DER AKTIVITÄTSUNTERSCHIEDE VON WUCHSSTOFFEN IM WENT- UND IM ZYLINDERTEST.

Von

R. Pohl.

(Eingegangen am 2. Juli 1954.)

A. Einleitung.

Im Mittelpunkt der biochemischen Analyse der Wuchsstoffwirkung steht heute immer noch die Frage nach dem Bau des Moleküls, an den die Wuchsstoffaktivität gebunden ist. Diese Aktivität ist aber verschieden hoch, je nachdem welcher biologische Test zu ihrer Bestimmung angewandt wird. Besonders auffallend sind derartige Differenzen beim Went(Krümmungs)- und beim Zylindertest, obwohl bei beiden die *Avena*-Koleoptile als Testobjekt zur Anwendung gelangt. Zu ihrer Erklärung wurden die verschiedensten Deutungen gegeben (s. Söding 1952); zwei verschiedene Reaktionsweisen des Wuchstoffes in beiden Testen wurden dabei aber bisher noch nicht als Ursache in Erwägung gezogen.

Nun konnte gezeigt werden (Pohl 1948, 1953), daß die β-Indolylessigsäure als natürlicher Wuchsstoff der höheren Pflanze das Streckungswachstum der *Avena*-Koleoptile auf *zweierlei Weise* anregt. Es wurde eine Reaktion der Zellen auf Wuchsstoff nachgewiesen, die bei Anwendung geringer Wuchsstoffkonzentrationen einsetzt und sich von einer zweiten, an höhere Wuchsstoffmengen gebundenen Reaktion grundsätzlich unterscheidet. Die erste Reaktion besteht in einer Erhöhung der Wasserpermeabilität, durch die in der Zeiteinheit von der Zelle mehr Wasser aufgenommen werden kann als ohne Wuchsstoff. Da die junge Zellwand plastisch dehnbar ist, führt diese höhere Wasseraufnahme zu einer irreversiblen Volumenvergrößerung der Zellen. Wir wollen im folgenden diese Reaktion der Zelle auf geringe Wuchsstoffkonzentrationen mit „*Permeabilitätsreaktion*" bezeichnen.

Der zweite Wuchsstoffeffekt kommt durch eine Saugkrafterhöhung zustande, aber nicht im klassischen Sinne durch eine Herabsetzung des Wanddruckes oder durch eine Erhöhung des osmotischen Wertes des Zellinhaltes. Verantwortlich für diese wuchsstoffinduzierte, irreversible Vergrößerung der Zellen ist vielmehr eine Wasseraufnahme, die auf nichtosmotischem Wege energetisiert wird (Pohl 1954). Nach der Theorie von Goldacre (1952) und Bogen (1953) wird dabei das Wasser mit Hilfe von Eiweißmolekülen als Trägern durch das Plasma in die Vacuole transportiert. Dort kann es aber nur dann gehalten werden, wenn die Zellwand der Vergrößerung der Vacuole ohne Erhöhung des Wanddruckes nachkommt. Dazu ist nur die junge Zelle mit ihrer plastisch hochdehn-

baren Wand in der Lage. Hinzukommt, daß entweder durch diese mechanische Dehnung das Gefüge der Wand eine Änderung erfährt, oder aber durch einen weiteren, *sekundären* Wuchsstoffeffekt auf Grund einer allgemeinen Förderung fermentativer Prozesse Bausteine in verstärktem Maße in die Wand eingelagert werden, wodurch eine Herabsetzung auch des Wanddruckes bedingt ist. Diese durch relativ hohe Wuchsstoffkonzentrationen bedingte nichtosmotische Wasseraufnahme soll im folgenden, da sie im Endeffekt bei jüngeren Zellen einer Saugkrafterhöhung gleichkommt, „Saugkraftreaktion" genannt werden.

Sitz der Permeabilitätsreaktion ist wahrscheinlich die Plasmagrenzfläche, während wir für die Saugkraftreaktion den Reaktionsort im Binnenplasma annehmen müssen, da sie nach Goldacre (1952) eine Adsorption von Wasser an Eiweißmoleküle, deren Transport mit Hilfe der Protoplasmaströmung durch das Plasma und eine Abgabe des Wassers an den Tonoplasten darstellt. Den verschiedenen Reaktionsorten werden erwartungsgemäß ebenfalls andersartige Konstitutionseigenschaften des Wirkstoffmoleküls entsprechen. Diese Annahme bildet die Grundlage zu einer Überprüfung der Differenzen in der Wuchsstoffaktivität beim Went- und beim Zylindertest. Dazu sollen in der vorliegenden Arbeit zwei Wege beschritten werden.

Die *Avena*-Koleoptile zeigt beim Wenttest einen ausgeprägten Längsgradienten in ihrer Empfindlichkeit auf Wuchsstoff. Ihre Streckungszone ist maximal empfindlich, während sie zur Basis hin unempfindlich wird. Beim Zylindertest ist zwar auch dieser Längsgradient der Wuchsstoffsensibilität vorhanden, doch nicht in so ausgeprägter Form wie beim Wenttest, da die Basiszone immerhin noch die halbe Empfindlichkeit der Streckungszone zeigt. Die Abnahme der Permeabilitätsreaktion und Saugkraftreaktion der Zellen auf β-Indolylessigsäure in Abhängigkeit von der Lage der Zellen bzw. ihrem Alter soll zunächst untersucht werden.

Zum anderen wären verschiedene synthetische Wuchsstoffe, von denen man weiß, daß sie im Went- und Zylindertest unterschiedliche Aktivitäten besitzen, in ihrer Wirkung auf die Permeabilitäts- und auf die Saugkraftreaktion zu überprüfen.

B. Material und Methode.

Die Versuche wurden, wenn nicht anders angegeben, an Zylindern aus 1,5—2 cm langen *Avena*-Koleoptilen (Svalöfs Siegeshafer) durchgeführt. Die Anzucht des Versuchsmaterials erfolgte nach der an anderer Stelle (Pohl 1953) beschriebenen Methode. 12 Std vor dem Versuch wurden Endosperm und Scutellum von den Keimpflanzen entfernt und $1^1/_2$ Std vor dem Herausschneiden der Zylinder die Koleoptilen dekapitiert. Die Koleoptilzylinder, die eine durchschnittliche Länge von 4,5 mm hatten, wurden im allgemeinen der Hauptstreckungszone (5 bis

10 mm unterhalb der Spitze) der Koleoptile mittels einer Maschine entnommen, deren Konstruktion an anderer Stelle beschrieben wurde (POHL 1954, im Druck). Die Bestimmung der Längenänderungen erfolgte nach der von uns (POHL 1953) entwickelten Methode an Hand von Kleinbildaufnahmen.

Für die im zweiten Teil dieser Arbeit durchgeführte Festlegung der Wirksamkeit von Wuchsstoffen auf die Wasserpermeabilität wurden die Zylinder zunächst für 30 min in eine 0,15 mol. Mannitlösung gelegt, der die zu prüfende Substanz zugesetzt war. Während dieser Zeit erfolgte ein Evakuieren der Lösungen an der Wasserstrahlpumpe, um die in dem Hohlraum der Zylinder sich haltende Luft zu entfernen und um ein schnelleres Eindringen der Wirkstoffe zu gewährleisten. Anschließend kamen die Zylinder in abgekochtes Leitungswasser, dem ebenfalls die Wuchsstoffe beigegeben waren. Da der Zuwachs in Wasser innerhalb der ersten 3 Std gradlinig verläuft und in erster Linie durch die Wasserpermeabilität des Protoplasmas begrenzt wird, kann er als ein relatives Maß für letztere dienen. Die zahlenmäßige Festlegung des Wirkstoffeffektes erfolgte durch Bildung des Quotienten Zuwachs mit Wirkstoff durch Zuwachs ohne Wirkstoff. Schwankungen, die sich aus der Aufzucht des Versuchsmaterials ergeben, wurden dadurch bei der Auswertung ausgeschaltet. Ferner wurde als Vergleich in jedem Versuch eine β-Indolylessigsäure-Kontrolle (IES 100 γ/Liter) mitgeführt.

Der Einfluß auf die Saugkraft wurde an Hand des Zuwachses in einer schwach hypotonen Mannitlösung bestimmt. Dazu kamen die Koleoptilzylinder nach dem Zerschneiden in 0,15 mol. Mannitlösungen mit und ohne Wuchsstoff, wurden dann evakuiert und unmittelbar danach photographiert. Die 2. Aufnahme wurde nach 7 Std gemacht. Der Zuwachs innerhalb dieser 7 Std galt als Maß für die Saugkraftänderung, da nach Ablauf von 1 Std in der Mannitlösung ohne Wuchsstoff bereits ein Ausgleich der Saugkraftdifferenz eintritt und wirkstofffreie Zylinder nach dieser Zeit keine Längenänderung mehr erfahren. Auch bei diesen Bestimmungen wurde zum Vergleich jedesmal eine IES-Kontrolle (10 mg/Liter) mitgetestet. Als Wirkstoffe kamen zur Anwendung:

β-Indolylessigsäure (Merck, Darmstadt),
β-Indolylbuttersäure (Merck, Darmstadt),
Naphthylessigsäure (Merck, Darmstadt),
Phenylessigsäure (Merck, Darmstadt),
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (Bayer, Leverkusen),
2,3,5-Trijodbenzoesäure, Schmelzpunkt 224—226°,
Laborpräparat (Prof. HESSE, Freiburg i. Br.)[1],
2,3,5-Trijodbenzoesäure, Schmelzpunkt 224°,
Laborpräparat (Prof. KROLLPFEIFFER, Marburg a. d. Lahn).

[1] Ich danke Herrn Prof. HESSE, Erlangen, und Herrn Prof. v. DENFFER bestens für die Bereitstellung der Präparate.

C. Die Versuche und ihre Ergebnisse.

1. Permeabilitäts- und Saugkraftreaktion der Koleoptilzellen auf Wuchsstoff in Abhängigkeit von ihrem Alter.

Das Reaktionsvermögen der Koleoptile nimmt bekanntlich beim Wenttest (Went und Thimann 1937, S. 40) von der Spitze zur Basis hin ab. Auch beim Zylindertest konnte eine solche Abhängigkeit der Wuchsstoffempfindlichkeit, wenn auch nicht in so ausgeprägter Weise wie beim Wenttest, aufgezeigt werden (Bentley 1952). Das Reaktionsvermögen eZder llen wird demnach von ihrem Alter bestimmt (du Buy 1953).

Tabelle 1. *Streckung der Koleoptilzylinder aus der Spitze, Mitte und Basis 3—4 cm langer Koleoptilen in H_2O und 0,05 mol. Mannitlösung in Abhängigkeit von der Zeit.* Längenänderungen in μ.

Versuchslösung	Zeit	Längenzunahme der Koleoptilzylinder aus		
		Spitze	Mitte	Basis
H_2O	1.—2. Std	58	58	45
	3.—5. Std	35	12	0,0
	6.—7. Std	13	0,0	0,0
Mannit 0,05 mol.	1.—2. Std	36	44	28
	3.—5. Std	23	0,0	0,0
	6.—7. Std	17	0,0	0,0

Es schien uns nun angebracht, zunächst einmal die Wasseraufnahme bzw. die Streckung von Koleoptilzylindern aus verschiedenen Regionen der Koleoptile und ihre Beeinflussung durch IES zu untersuchen, bevor wir die Überprüfung verschiedener Wuchsstoffe vornahmen. Dazu wurden aus der Spitze, Mitte und Basis 3—4 cm langer Koleoptilen je 2×12 Zylinder herausgeschnitten, diese für $^1/_2$ Std in 0,15 mol. Mannitlösung gelegt und anschließend in Wasser bzw. 0,05 mol. Mannitlösung übertragen. Ihre Streckung wurde über 7 Std verfolgt mit Zwischenmessungen nach Ablauf der 2. und 5. Std. Tabelle 1 gibt das Ergebnis dieses Versuches wieder.

In den ersten 2 Std ist die Streckung der Zylinder aus der Spitze und Mitte der Koleoptilen gleich, auch die der Basiszone nicht wesentlich geringer. Von der 3.—5. Std an treten dagegen erhebliche Differenzen auf. Die Zylinder aus der Basiszone strecken sich nicht mehr, und auch die Längenzunahme der Mittelzone ist wesentlich geringer geworden, während die Zylinder aus der Spitze der Koleoptile, d. h. aus der Streckungszone, noch einen erheblichen Zuwachs aufweisen. Dieser bleibt, wenn auch herabgesetzt, bis zur 7. Std bestehen; die Zylinder aus der Mitte der Koleoptile strecken sich nach der 5. Std nicht mehr. Die Saugkraftdifferenz zwischen Gewebe und Außenlösung wird demnach beim Basisgewebe innerhalb der ersten 2 Std, bei Zylindern aus der Mitte der Koleoptile innerhalb der 3.—4. Std und beim Gewebe aus der Streckungszone wahrscheinlich innerhalb der 6.—7. Std ausgeglichen.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß die Wasserpermeabilität der Zellen in der Basis der Koleoptile größer ist als die der höher gelegenen Zellen, und daß ferner die Saugkraft der Zellen zur Spitze hin zunimmt.

Zur Bekräftigung dieses Befundes wurde die Saugkraftdifferenz Gewebe/Außenmedium durch Einlegen der Zylinder in 0,05 mol. Mannitlösung herabgesetzt. Die Ergebnisse dieses Versuches bestätigen obigen Befund. Sie zeigen weiterhin, daß auch bereits in der Mittelzone die Wasserpermeabilität wesentlich höher ist als in der Streckungszone der Koleoptile nahe ihrer Spitze.

Tabelle 2. *Streckung der Koleoptilzylinder aus der Spitze, Mitte und Basis verschieden alter Koleoptilen innerhalb von 2 Std mit und ohne Wuchsstoff (200 γ/Liter IES).* (Längenänderung in μ.)

Länge der Koleoptilen mm	Behandlung	Längenzunahme der Zylinder aus		
		Spitze	Mitte	Basis
30	ohne Wuchsstoff .	68	65	33
	mit Wuchsstoff .	262	204	49
40	ohne Wuchsstoff .	61	47	35
	mit Wuchsstoff .	174	113	36
40—45	ohne Wuchsstoff .	41	41	34
	mit Wuchsstoff .	143	63	37

Anschließend wurde der Einfluß einer geringen Wuchsstoffmenge (200 γ/Liter) IES auf die Streckung der Zylinder aus den 3 Zonen der Koleoptile untersucht und gleichzeitig dabei verschieden lange Koleoptilen berücksichtigt, die bei gleichen Anzuchtbedingungen also verschiedenen Alters waren. Der Versuchsgang war derselbe, wie vorher beschrieben, wobei der 0,15 mol. Mannitlösung, in die die Zylinder zunächst für $^1/_2$ Std gelegt wurden, für die mit Wuchsstoff behandelten Zylinder bereits 200 γ/Liter IES zugegeben wurden. Die Streckung in Wasser und in Wasser mit Wuchsstoff wurde aber nur innerhalb der ersten 2 Std gemessen. Tabelle 2 gibt das Ergebnis dieses Versuches wieder.

Eine varianzanalytische Überprüfung dieses Versuches brachte folgende Endanalyse (Tabelle 3). Der Berechnung wurde nicht die Längenänderung in Mikron, sondern in Okulareinheiten zugrunde gelegt.

Diese Endanalyse zeigt neben der Tatsache, daß Koleoptillänge, Zylinderlage und Wuchsstoffbehandlung Einfluß auf die Streckung in Wasser nehmen, daß die angewandte Methodik ohne eine unkontrollierte Variable ist. Bei der Eindeutigkeit dieser Ergebnisse konnte bei den weiteren Versuchen in den meisten Fällen auf eine varianzanalytische Prüfung verzichtet werden.

Die Werte der Tabelle 2 zeigen, daß ein Einfluß des Wuchsstoffes auf die Zylinder aus der Basis der Koleoptile nur bei 30 mm langen, also relativ jungen Koleoptilen gegeben ist. Die geringen Zunahmen bei 40 und 40—45 mm langen Koleoptilen sind nicht mehr gesichert.

Tabelle 3. *Endanalyse zum Versuch Tabelle 1.*

Variationsursache	σ^2 der Abweichungen	Freiheitsgrade	Varianz σ^2	Fehler berechnet	Fehler 95 %	Grenzwert 99 %
Koleoptillänge	320,6	2	160,3	9,956	3,44	5,72
Koleoptillänge × Wiederholung	353,5	22	16,1			
Zylinderlage	1870,6	2	935,3	77,3	3,44	5,72
Zylinderlage × Wiederholung	266,8	22	12,1			
Wuchsstoffbehandlung	2010,2	1	2010,2	134,9	4,84	9,65
Wuchsstoffbehandlung × Wiederholung	164,2	11	14,9			
Koleptillänge × Zylinderlage	254,4	4	63,6	8,48	2,59	3,80
Koleoptillänge × Zylinderlage × Wiederholung	328,2	44	7,5			
Wuchsstoff × Zylinderlage	998,8	2	499,4	29,4	3,44	5,72
Wuchsstoff × Zylinderlage × Wiederholung	374,8	22	17,0			
Wuchsstoffbehandlung × Koleoptillänge	2462,6	2	1231,3	98,5	3,44	5,72
Wuchsstoffbehandlung × Koleoptillänge × Wiederholung	275,9	22	12,5			
Wuchsstoffbehandlung × Zylinderlage × Koleoptillänge	151,6	4	37,9	9,72	2,59	3,80
Wuchsstoffbehandlung × Zylinderlage × Koleoptillänge × Wiederholung	171,8	44	3,9			

Mittlerer Fehler des Versuchs in Prozent des Mittelwertes = 0,014%.

In der gleichen Weise kann eine Abnahme der Empfindlichkeit der Koleoptile auf IES mit Zunahme des Alters bei den Zylindern aus Mittel- und Spitzenzone der Koleoptile beobachtet werden. Dieser Befund deckt sich also weitgehend mit den beim Wenttest gemachten Erfahrungen.

Tabelle 4. *Streckung der Koleoptilzylinder aus der Spitze, Mitte und Basis 3,5 mm langer Koleoptilen in 0,15 mol. Mannitlösung ohne und mit Wuchsstoff (10 mg/Liter) innerhalb von 7 Std.*
(Längenzunahme der Zylinder in μ.)

Versuchslösung	Längenzunahme der Zylinder aus		
	Spitze	Mitte	Basis
0,15 mol. Mannit ohne Wuchsstoff	13	7	7
0,15 mol. Mannit mit Wuchsstoff	90	76	47

Der Einfluß des Wuchsstoffes auf die „Saugkraft" der Koleoptilzylinder in Abhängigkeit von ihrer Lage gibt Tabelle 4 wieder. Die Koleoptilzylinder wurden, wie im Abschnitt „Material und Methode" beschrieben, in 0,15 mol. Mannitlösung ohne und mit IES (10 mg/Liter) gelegt und der Zuwachs in diesen Lösungen innerhalb von 7 Std bestimmt. Die in Tabelle 4 angegebenen Werte sind Mittelwerte aus 2 Versuchen mit je 12 Zylindern für jede Lösung und Zylinderlage.

In den Lösungen ohne Wuchsstoff zeigt sich wiederum die höhere Saugkraft des Spitzengewebes. Der Einfluß des Wuchsstoffes auf die Zellstreckung, die durch eine „Saugkraftänderung" ausgelöst werden

muß, beschränkt sich aber nicht allein auf die Wachstumsregion der Koleoptile, sondern noch in erheblichem Umfang auch auf ihre Basis. Dies steht in Übereinstimmung mit den Erfahrungen, die mit dem Zylindertest gemacht werden, wobei ebenfalls eine wenn auch verminderte Empfindlichkeit der Basis gegenüber der Spitze der Koleoptile festgestellt wurde (BENTLEY 1952).

Vorstehende Ergebnisse bestätigen somit die von uns (POHL 1948 und 1953) gemachte Beobachtung über zwei Wirkungsmechanismen des Wuchsstoffes bei der Zellstreckung. Sie zeigen darüber hinaus, daß der Einfluß des Wuchsstoffes auf die Wasserpermeabilität von der Spitze der Koleoptile zur Basis hin sehr schnell abnimmt, wohingegen sein Einfluß auf die Saugkraft der Zellen auch in der Basiszone noch relativ stark ist.

2. *Der Einfluß verschiedener Wuchsstoffe auf Wasserpermeabilität und Saugkraft der Koleoptilzylinder.*

Die Technik der folgenden Versuche wurde im Kapitel „Material und Methode" ausführlich geschildert. Wir können uns daher hier auf die Mitteilung der reinen Versuchsergebnisse beschränken. Ergänzend sei nur mitgeteilt, daß jeder in den nachstehenden Tabellen aufgeführte Wachstumswert den Mittelwert von mindestens zwei, zum Teil auch von drei Parallelversuchen darstellt und demnach die Längenänderungen von 24 bzw. 36 Koleoptilzylindern im Mittel wiedergibt. Für jeden Wuchsstoff wurde neben der Längenänderung auch sein jeweiliger Wirkungsquotient (Q-Wert) angegeben, der sich aus der Längenänderung mit Wirkstoff durch die Längenänderung in Wasser ohne Wirkstoff ergibt.

Tabelle 5. *Einfluß von Wuchsstoffen auf die Wasserpermeabilität der Koleoptilzylinder.*
(Längenänderungen in μ. Konzentration der IES = 100 γ/Liter.)

	Wirkstoff in γ/Liter						
	0,1	1	10	100	1000	IES	H_2O
β-Indolylbuttersäure	—	—	78	113	214	346	95
Q-Wert			0,8	1,2	2,3	3,6	
Naphthalenessigsäure	—	—	90	206	333	302	91
Q-Wert			1	2,3	3,7	3,3	
Phenylessigsäure	77	103	98	39	38	286	84
Q-Wert	0,9	1,24	1,18	0,46	0,45	3,4	
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	109	87	84	110	128	300	100
Q-Wert	1,1	0,9	0,8	1,1	1,3	3	
2,3,5-Trijodbenzoesäure	88,5	84	88	82	106	308	90
Q-Wert	0,98	0,93	0,98	0,91	1,2	3,4	

Tabelle 6. *Einfluß von Wuchsstoffen auf die Saugkraft der Koleoptilzylinder.* (Längenänderungen in μ. Konzentration der IES = 10 mg/Liter.)

	Wirkstoff in mg/Liter				
	1	10	100	IES	Ohne Wirkstoff
β-Indolylbuttersäure	31	128	51	151	3,3
Naphthalenessigsäure	48	150	44	134	16
Phenylessigsäure	20	40	87	108	11,5
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure . .	84	156	28	121	18
2,3,5-Trijodbenzoesäure	16	41	28	108	15

Die Besprechung der Werte vorstehender Tabelle erfolgt zweckmäßig in Verbindung mit denen der Tabelle 6, die den Einfluß der gleichen Wirkstoffe auf die Saugkraft der Koleoptilzylinder wiedergibt.

Die *β-Indolylbuttersäure* steigert demnach die Wasserpermeabilität der Zellen erst in der Konzentration von 1000 γ/Liter; 10 und 100 γ/Liter sind praktisch unwirksam, da die Differenzen zur Wasserkontrolle nicht gesichert sind. Die Saugkraft der Zellen wird dagegen durch sie fast um denselben Betrag gesteigert wie durch eine gleiche IES-Konzentration.

Bei der *Naphthalenessigsäure* ist es dagegen anders; sie beeinflußt in recht erheblichem Maße sowohl die Wasserpermeabilität wie auch die Saugkraft. Im letzten Fall ist sie sogar wirksamer als die IES.

Die *Phenylessigsäure* setzt in mittleren Konzentrationen die Wasserpermeabilität herab, und nur bei den schwachen Konzentrationen von 1—10 γ/Liter liegt eine geringe Förderung vor, die aber nur mit 95% gesichert ist ($n = 24$). Die Herabsetzung der Wasserpermeabilität in mittlerer Dosis ist kein Letaleffekt der Phenylessigsäure; denn bei Anwendung höherer Konzentrationen, wie sie bei der Untersuchung ihres Einflusses auf die Saugkraft zur Einwirkung kommen, fördert selbst noch eine Konzentration von 100 mg/Liter das Wachstum, ohne einen Schädigungseffekt auszulösen. Die Wirksamkeit der Phenylessigsäure auf die Saugkraft ist geringer als die der IES. Die als starker Wuchsstoff bekannte *2,4-Dichlorphenoxyessigsäure* erweist sich auf die Wasserpermeabilität der Koleoptilzylinder als völlig unwirksam. Die Saugkraft wird dagegen wie erwartet durch sie stärker beeinflußt als durch die IES. Als letzter Wirkstoff wurde die in der Literatur als Hemmstoff geführte *2,3,5-Trijodbenzoesäure* geprüft. Diese Substanz, welche das Wachstum der Kressewurzel fördert (Pohl und Ochs 1953), hat keinen Einfluß auf die Wasserpermeabilität, wohl aber eine schwache Wirksamkeit auf die Saugkraft. Über die Wirkung dieses Hemmstoffes in Kombination mit IES auf Wasserpermeabilität und Saugkraft wird an anderer Stelle berichtet werden.

D. Diskusion der Ergebnisse.

Vorstehende Untersuchungen stützen die Theorie über zwei Wirkungsmechanismen des Wuchsstoffes bei der Zellstreckung der Avenakoleo-

ptile. Einmal kann die starke Abnahme des Wuchsstoffeffektes auf die Wasserpermeabilität von der Spitze der Koleoptile zur Basis hin, der eine nur geringe Herabsetzung des Effektes auf die Saugkraft gegenübersteht, als neuer Beweis unserer Theorie angeführt werden. Zum andern zeigen die Versuche mit Wuchsstoffen verschiedener Konstitution, daß dem Effekt einer bestimmten Substanz auf die Saugkraft nicht auch ein gleichwertiger auf die Permeabilität entspricht. Beide Reaktionen der Zelle auf Wuchsstoff sind also unabhängig voneinander.

Die schnelle Abnahme der *Permeabilitätsreaktion*, wie wir den ersten Wuchsstoffeffekt bezeichneten, ist verständlich, wenn wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen über den Wassertransport in der Koleoptile mit Fluorescenzfarbstoffen berücksichtigen (Pohl 1954). Dort konnte gezeigt werden, daß in der Basis- und Mittelzone der Koleoptile ein Transport von Fluorochromen in den Zellwänden vor sich geht, in der Spitzen- und Streckungszone dieser Transportweg dagegen versperrt ist. Hier kann danach eine Versorgung der Zelle mit Wasser nicht unmittelbar aus ihrer Zellwand nach der Imbibitionstheorie erfolgen, sondern nur von Zelle zu Zelle bzw. von Protoplast zu Protoplast. Der Transportweg für Wasser wird demnach in der Spitze der Koleoptile erheblich höhere Widerstände aufweisen als in der Basis und im mittleren Teil der Koleoptile, wo ein offener Wasserweg von den Gefäßen bis zur einzelnen Zelle durch das Intermicellarsystem der Zellwände gegeben ist. Unsere Untersuchungen haben diesen Gradienten in der Wasserpermeabilität von der Spitze zur Basis der Koleoptile wiederum aufgezeigt, gleichzeitig aber auch einen Unterschied in der Saugkraft. Die Zellen im oberen, jüngeren Teil der Koleoptile haben eine höhere Saugkraft als alte Zellen an ihrer Basis. Wenn der Wuchsstoff in geringen Konzentrationen die Wasserpermeabilität der Zellen erhöht, dann kann sich naturgemäß nur dort ein derartiger Effekt auswirken, wo ohne Wuchsstoff eine niedrige Permeabilität und ein hohes Saugkraftgefälle der Zellen gegeben ist. Dies ist aber, wie wir sahen, nur in der Koleoptilspitze und in der Streckungszone der Fall, und nur in diesem Bereich der Koleoptile kann ein Permeabilitätseffekt des Wuchsstoffes zu einer Streckung der Zellen führen. Allerdings kommt noch als weitere Bedingung eine plastische Dehnbarkeit der Zellwand hinzu, wie sie bei der Koleoptile in dieser Zone aber auch ohne Wuchsstoff bereits gegeben ist (Pohl 1953). Die Versuche mit geringen Wuchsstoffkonzentrationen haben unsere theoretischen Erwartungen bestätigt. Bei jungen Koleoptilen zeigt auch die mittlere Zone noch eine Reaktion auf Wuchsstoff, bei der älteren aber nur ihre Spitze. Dies steht in guter Übereinstimmung mit den Erfahrungen, die man beim Wenttest gewinnen konnte.

Im Gegensatz zum Wenttest weist der Zylindertest nicht in so ausgeprägter Weise einen Längsgradienten in der Empfindlichkeit der Zellen auf Wuchsstoff auf. Auch Zylinder aus der Basis der Koleoptile

reagieren noch auf Wuchsstoff mit einer Wachstumsförderung, die gewiß etwas abgeschwächt ist (BENTLEY 1952). Unsere vorliegenden Versuche über den Einfluß des Wuchsstoffes auf die Saugkraft der Koleoptilzylinder aus den verschiedenen Zonen der Koleoptile ergeben eine Empfindlichkeitsabnahme der Zellen auf Wuchsstoff nur um 50% zwischen Basis und Spitze. BENTLEY (1952) fand bei Zylindern ohne Vorbehandlung mit Zucker und KH_2PO_4 eine Abnahme von 41%. Wir können daraus den Schluß ziehen, daß beim Zylindertest in erster Linie die durch den Wuchsstoff induzierte *Saugkraftänderung der Zellen* erfaßt wird, im Wenttest dagegen sein Einfluß auf die *Wasserpermeabilität*. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit der Abhängigkeit beider Reaktionen von der Wirkstoffkonzentration. Wie wir (POHL 1953) zeigen konnten, steigen die Wasserpermeabilität wie auch die Krümmungen der Koleoptile beim Wenttest linear proportional mit der Wuchsstoffmenge an, die Saugkraftreaktion und der Zuwachs im Zylindertest aber proportional mit dem Logarithmus der Wuchsstoffkonzentration.

Nach Auffinden dieser zwei Wirkungsmechanismen des nativen Wuchsstoffes bei der Zellstreckung lag die Frage nahe, ob synthetische Wuchsstoffe beide Reaktionen gleich stark beeinflussen. Unsere Untersuchungen ergaben, daß dies nicht der Fall ist. Vielmehr zeigte die Überprüfung nur einiger weniger Wirkstoffe bereits erhebliche Unterschiede. Die 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure hat z. B. keine Wirkung auf die Permeabilität, wohl aber eine sehr starke auf die Saugkraft. Diese Befunde stellen einerseits einen weiteren Beweis für die Existenz zweier Wirkungsmechanismen des Wuchsstoffes dar, zum anderen zeigen sie aber auch, daß beiden Reaktionen der Zelle auf Wuchsstoff bestimmte Konstitutionseigenschaften des Wuchsstoffmeloküls zugeschrieben werden müssen, deren Analyse jedoch mit einer größeren Anzahl von Wuchsstoffen durchgeführt werden muß, als es in der vorliegenden Arbeit geschah.

Mit den wenigen von uns untersuchten Stoffen kann aber die Frage nach dem unterschiedlichen Verhalten verschiedener Wuchsstoffe im Went- bzw. im Zylindertest einer Klärung näher gebracht werden. Zur Erklärung dieser auffälligen Differenzen hat man die verschiedensten Theorien herangezogen (s. SÖDING 1952). Folgende 4 Faktoren sollen das unterschiedliche Verhalten synthetischer Wuchsstoffe in beiden Testen verursachen: 1. der Transport in basaler Richtung; 2. der Lateraltransport; 3. das Eindringvermögen in die Zelle; 4. der Einfluß des Wuchsstoffes auf die das Wachstum vorbereitenden Reaktionen.

Der 4. Faktor dürfte bei einem Vergleich der Wirksamkeiten im Went- und im Zylindertest meines Erachtens aber ausscheiden, da die vorbereitende Reaktion für einen bestimmten Wuchsstoff bei Annahme eines Wirkungsmechanismus in beiden Testen die gleiche ist. Ferner

werden bei Anwendung unserer Methode zur Trennung von Permeabilitäts- und Saugkrafteffekt der Wuchsstoffe die beiden ersten Faktoren ausgeschaltet, während mit dem 3. Faktor, dem Eindringungsvermögen, wenigstens bei der Überprüfung des Permeabilitätseffektes gerechnet werden muß, da dieser relativ kurzfristig verläuft.

Vergleichen wir nun Aktivitäten der von uns geprüften Wirkstoffe unter Bezugnahme ihrer Wirksamkeit in beiden Reaktionen auf die der β-Indolylessigsäure mit einer Zusammenstellung der relativen Aktivitäten nach SÖDING (1952) im *Avena*-, Zylinder- und Erbsentest, so ergibt sich folgendes Bild (Tabelle 7).

Tabelle 7. *Relative Aktivität der in dieser Arbeit untersuchten Wirkstoffe in verschiedenen Tests.*

Substanz	Permabilitätstest	Saugkrafttest	Avenatest	Zylindertest	Erbsentest
β-Indolylessigsäure	100	100	100	100	100
β-Indolylbuttersäure	5	85	5	—	150
Naphthylessigsäure	56	113	2,5	—	100
Phenylessigsäure	—50	29	0,02	1	10
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure*	0	134	0,0	300	200—1200
2,3.5-Trijodbenzoesäure*	0	28	hemmt	hemmt	—

* Nach BONNER (1950).

Im Erbsentest und Zylindertest dürfte danach in erster Linie der Wuchsstoffeffekt auf die Saugkraft zum Tragen kommen, während der Avenatest offensichtlich den Permeabilitätseffekt des Wuchsstoffes erfaßt. Dies steht in voller Übereinstimmung mit unserem Befund, daß Empfindlichkeit der Koleoptile beim Wenttest und die Beeinflußbarkeit der Wasserpermeabilität von der Spitze der Koleoptile zur Basis hin sehr schnell abnimmt. Scheinbare Ausnahmen in der Vergleichstabelle machen die Naphthalenessigsäure und Phenylessigsäure. Dazu ist aber zu sagen, daß für die Naphthalenessigsäure von LARSEN eine relative Aktivität von 29% gefunden wurde und daß die bei einer Phenylessigsäure-Konzentration von 100 γ/Liter gemessene Erniedrigung der Permeabilität (um 50%) beim Wenttest nicht in Erscheinung treten kann. Die dort gemessene äußerst schwache Aktivität der Phenylessigsäure kann bei der zur Anwendung gelangten hohen Konzentration durch den Effekt des Wirkstoffes auf die Saugkraft gegeben sein.

Der Hemmstoff 2,3,5-Trijodbenzoesäure zeigt eine schwache Wirksamkeit auf die „Saugkraft". Ob dieser Effekt durch ein Abdrängen von Wuchsstoffmolekülen von Adsorptionsstellen im Plasma ohne Wachstumseffekt auf solche mit Wachstumsauslösung zustande kommt, soll in einer weiteren Arbeit über die Wirkung von Wuchsstoffant-

agonisten und Fermentgiften auf die beiden Wuchsstoffeffekte bei der Zellstreckung diskutiert werden. Einen Einfluß auf die Permeabilität der Zelle hat 2,3,5-Trijodbenzoesäure selbst jedoch nicht.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Es wurde ein Längsgradient für die wuchsstoffinduzierte Permeabilitätserhöhung für Wasser in der Koleoptile aufgezeigt. Der Einfluß des Wuchsstoffes auf die Wasserpermeabilität, die zu einem Wachstum führen kann, nimmt von der Spitze der Koleoptile zur Basis hin sehr stark ab.

2. Für den Einfluß des Wuchsstoffes auf die „Saugkraft" ist dieser Längsgradient nicht so stark ausgeprägt. Auch die Zellen aus der Basis der Koleoptilen antworten auf Wuchsstoff noch mit einem erheblichen Wachstum, das auf eine Saugkrafterhöhung zurückgeführt werden muß.

3. Ein Vergleich der Aktivität verschiedener Wuchsstoffe auf Permeabilität und „Saugkraft" der Zellen läßt den Schluß zu, daß der Wenttest die Veränderung der Wasserpermeabilität durch Wuchsstoff erfaßt, der Zylinder- und Erbsentest dagegen die der „Saugkraft".

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, für die ich bestens danke. Ebenso danke ich Fräulein Melanie Müller für ihre tatkräftige Hilfe bei den Versuchen.

Literatur.

Bentley, J. A.: An examination of method of auxin assay using the growth of isolated sections of Avena coleoptiles in test solutions. J. of Exper. Bot. **1**, 201—212 (1952). — Bogen, H. J.: Beiträge zur Physiologie der nichtosmotischen Wasseraufnahme. Planta (Berl.) **42**, 140—155 (1953). — Bonner, J.: Plant biochemistry. New York 1950. — Buy, H. G. du: Über Wachstum und Phototropismus von *Avena sativa*. Rec. Trav. bot. néerl. **30**, 798—925 (1933). — Goldacre, R. J.: The folding and unfolding of protein molecules as a basis of osmotic work. Internat. Rev. Cytol. **1**, 135—164 (1952). — Pohl, R.: Über die primäre Wirkung des Wuchsstoffes bei der Zellstreckung. Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, 22—23 (1939). — Ein Beitrag zur Analyse des Streckungswachstums der Pflanzen. Planta (Berl.) **36**, 230—261 (1948). — Zur Reaktionsweise des Wuchsstoffes bei der Zellstreckung. Z. Bot. **41**, 343—372 (1953). — Die fluorescenzmikroskopische Analyse des Wasserweges in der *Avena*-Koleoptile. Z. Bot. **42**, 63—72 (1954). — Zur Frage einer wuchsstoffinduzierten, nichtosmotischen Wasseraufnahme bei der Zellstreckung. Planta (Berl.) (im Druck). — Pohl, R., u. G. Ochs: Über die Wuchsstoffwirkung beim Streckungswachstum der Wurzel. Naturwiss. **40**, 23—25 (1953). — Söding, H.: Die Wuchsstofflehre. Ergebnisse und Probleme der Wuchsstofforschung. Stuttgart 1952. — Went, F. W.: Wuchsstoff und Wachstum. Rec. Trav. bot. néerl. **25**, 1—116 (1928). — Went, F. W., and K. V. Thimann: Phytohormones. New York 1937.

Doz. Dr. R. Pohl,
Bot. Institut der Universität Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9—11.

Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Einführung in die Atomphysik

Von Professor Dr. **Wolfgang Finkelnburg**, Erlangen. Dritte, umgearbeitete und erweiterte Auflage. Mit 266 Abbildungen. XI, 543 Seiten Gr.-8°. 1954.

Ganzleinen DM 44.—

Inhaltsübersicht: Einleitung. — Atome, Ionen, Elektronen, Atomkerne, Photonen. — Atomspektren und Atombau. — Die quantenmechanische Atomtheorie. — Die Physik der Atomkerne. — Physik der Moleküle. — Festkörper-Atomphysik. — Tabelle der für die Atomphysik wichtigsten Konstanten und Beziehungen. Sachverzeichnis.

Nach der überaus freundlichen Aufnahme, die das Buch bisher gefunden hat, scheint es seinen Zweck zu erfüllen, den gesamten Erscheinungskomplex der Atomphysik in anschaulicher und verständlicher, dabei aber wissenschaftlich einwandfreier Darstellung den Studenten wie den schon in der Praxis tätigen Physikern, Chemikern, Ingenieuren und sonstigen Interessenten nahezubringen. Um das Buch trotz des stürmischen Tempos der atomphysikalischen Forschung, das sich in der Kernphysik, der Höhenstrahlphysik und der Festkörperphysik in den letzten Jahren noch verschärft hat, auf dem neuesten Stand unserer Kenntnis zu halten, wurde es unter Beibehaltung der sich offenbar bewährenden Art der Darstellung noch einmal vollständig überarbeitet. Dabei erwies es sich als unumgänglich, die Kernphysik und die Festkörper-Atomphysik erneut völlig umzuschreiben und diesen Gebieten entsprechend ihrer zunehmenden Bedeutung einen Raum zu widmen, der dem der Atomhüllenphysik vergleichbar ist. Auch in den übrigen Kapiteln wurde die Darstellung klarer gefaßt und in vielen Einzelheiten ergänzt und korrigiert.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Hoppe-Seyler/Thierfelder

Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse

Für Ärzte, Biologen und Chemiker. Zehnte Auflage. Herausgegeben von Professor Dr. Dr. **K. Lang**, Direktor des Physiologisch-Chemischen Instituts der Universität Mainz, und Professor Dr. **E. Lehnartz**, Direktor des Physiologisch-Chemischen Instituts der Universität Münster i. W., unter Mitarbeit von Privatdozent Dr. Günther Siebert, Mainz. In fünf Bänden.

Erster Band:

Allgemeine Untersuchungsmethoden 1. Teil

Mit 502 Abbildungen. XII, 762 Seiten 4°. 1953. Moleskin DM 185.—
Bei Verpflichtung zur Abnahme des gesamten Handbuches
Subskriptionspreis Moleskin DM 148.—

Inhaltsübersicht: **Untersuchung von Krystallen mit dem Polarisationsmikroskop.** Von A. Rittmann, Alexandria, und B. Flaschenträger, Alexandria. — **Mikromethodik.** Von H. Lieb, Graz, und W. Schöniger, Graz. — **Elektrophorese.** Von E. Wiedemann, Basel. — **Die Ultrazentrifuge.** Von E. Hellman, Uppsala/Schweden. — **Chromatographie.** Von H. M. Rauen, Frankfurt/Main. — **Die Gegenstromverteilung.** Von H. M. Rauen, Frankfurt/Main, und W. Stamm, Frankfurt/Main. — **Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische.** Von L. Kofler†, Innsbruck. — **Absorption und Emission von Strahlung.** Von G. Kortüm und M. Kortüm-Seiler, Tübingen. — **Nephelometrie.** Von G. Kortüm und M. Kortüm-Seiler, Tübingen. — **Refraktometrie und Interferometrie.** Von G. Kortüm und M. Kortüm-Seiler, Tübingen. — **Polarimetrie.** Von G. Kortüm und M. Kortüm-Seiler, Tübingen. — **Elektrische Leitfähigkeit.** Von G. Schmid, Köln. — **Wasserstoffionenkonzentration.** Von F. Ender, Heidelberg. — **Colorimetrische Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration.** Von W. Esselborn, Darmstadt. — **Redoxpotentiale.** Von F. Ender, Heidelberg. — Namen- und Sachverzeichnis.

Fünfter Band:

Untersuchung der Organe, Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen

Mit 44 Abbildungen. IX, 938 Seiten 4°. 1953. Moleskin DM 168.—
Bei Verpflichtung zur Abnahme des gesamten Handbuches
Subskriptionspreis Moleskin DM 134.40

Inhaltsübersicht: **Untersuchung der Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen:** Blut. Harn. Von K. Hinsberg, Düsseldorf. Liquor cerebrospinalis. Pathologische Flüssigkeitsansammlungen. Von K. Hinsberg und W. Geinitz, Düsseldorf. Speichel. Sputum. Von K. Hinsberg und G. Schmid, Düsseldorf. Magensaft und Mageninhalt. Darmsaft. Pankreassaft. Galle. Von K. Hinsberg und F. Bruns, Düsseldorf. Faeces. Von K. Hinsberg, Düsseldorf, H. D. Cremer, Mainz, und G. Schmid, Düsseldorf. Konkremente. Von K. Hinsberg und W. Geinitz, Düsseldorf. — **Untersuchung der Organe:** Von H. D. Cremer, Mainz, und J. Führ, Hamburg. Allgemeines und Normalwerte. Die einzelnen Organe: Leber. Niere und Harnorgane. Milz und lymphatische Gewebe. Lunge. Magen und Darm. Zentralnervensystem und periphere Nerven. Muskel, Herz und Uterus. Auge. Sexualorgane und Fortpflanzung. Haut, Hautsekrete, Haare und Hornsubstanzen. Bindegewebe, Fettgewebe und Gefäße. Knochen, Knochenmark, Knorpel, Gelenke und Gelenkflüssigkeit. Zähne. Innersekretotische Drüsen (ausschließlich Hormone): Hypophyse. Schilddrüse. Nebenschilddrüsen. Thymusdrüse. Nebennieren. Pankreas. Drüsen ohne endokrine Funktion: Speicheldrüsen. Brustdrüse. Bürzeldrüse. Tränendrüse und Tränen. — **Untersuchung der Milch.** Von W. Diemair, Frankfurt/Main. — **Untersuchung von Tumoren.** Von C. Dittmar, Frankfurt/Main. — **Nachweis wichtiger Arzneimittel und Gifte.** Von K. Gemeinhardt†, Berlin. — Namen- und Sachverzeichnis.

Ferner sind in Vorbereitung:

Zweiter Band: **Allgemeine Untersuchungsmethoden,** 2. Teil.
Dritter Band: **Bausteine des Tierkörpers,** 1. Teil.
Vierter Band: **Bausteine des Tierkörpers,** 2. Teil.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegen drei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin · Göttingen · Heidelberg, bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.